

UFRRJ

INSTITUTO DE VETERINÁRIA

CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

DISSERTAÇÃO

Análise da diversidade microbiana e do perfil de resistência à colistina
em enterobactérias presentes em ambientes de produção avícola: um
estudo comparativo com foco em Saúde Única

Paulo Roberto Lima de Azevedo Junior

2024



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
VETERINÁRIAS

Análise da diversidade microbiana e do perfil de resistência à colistina
em enterobactérias presentes em ambientes de produção avícola: um
estudo comparativo com foco em Saúde Única

PAULO ROBERTO LIMA DE AZEVEDO JUNIOR

Sob a Orientação da Professora
Dr^a Miliane Moreira Soares de Souza

Co-orientação da Professora
Dr^a Irene da Silva Coelho

e Co-orientação da Professora
Dr^a Dayanne Araújo de Melo

Dissertação submetida como
requisito parcial para obtenção do
grau de **Mestre em Ciências**, no
curso de Pós-Graduação em
Ciências Veterinárias.

Seropédica, RJ
Julho de 2024

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

A324a Azevedo Junior, Paulo Roberto Lima de, 1995-
Análise da diversidade microbiana e do perfil de
resistência à colistina em enterobactérias presentes
em ambientes de produção avícola: um estudo comparativo
com foco em Saúde Única / Paulo Roberto Lima de
Azevedo Junior. - Seropédica, 2024.
78 f.: il.

Orientadora: Milliane Moreira Soares de Souza.
Coorientadora: Irene da Silva Coelho.
Coorientadora: Dayanne Araújo de Melo.
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal
Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em
Ciências Veterinárias, 2024.

1. Avicultura. 2. Microrganismos. 3. Microbioma.
4. Genes. 5. Saúde Única. I. Souza, Milliane Moreira
Soares de, 1970-, orient. II. Coelho, Irene da Silva,
-, coorient. III. Melo, Dayanne Araújo de, -,
coorient. IV Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Ciências
Veterinárias. V. Título.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS



ATA Nº 3582/2024 - PPGCV (12.28.01.00.00.00.50)

Nº do Protocolo: 23083.044295/2024-34

Seropédica-RJ, 22 de agosto de 2024.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

PAULO ROBERTO LIMA DE AZEVEDO JUNIOR

Dissertação submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre** em Ciências,
no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 21/08/2024

(Assinado digitalmente em 26/08/2024 14:47)

MILIANE MOREIRA SOARES DE SOUZA

PRO-REITOR(A)

PROGEP (12.28.01.09)

Matrícula: ###124#8

(Assinado digitalmente em 22/08/2024 15:10)

RAMON LOUREIRO PIMENTA

PROFESSOR MAGISTERIO SUPERIOR-SUBSTITUTO

DESP (12.28.01.00.00.00.52)

Matrícula: ###378#6

(Assinado digitalmente em 23/08/2024 17:49)

INGRID ANNES PEREIRA

ASSINANTE EXTERNO

CPF: ###.###.277-##

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrrj.br/public/documentos/index.jsp> informando seu número: 3582, ano: 2024,
tipo: ATA, data de emissão: 22/08/2024 e o código de verificação: 0cd3cbe0e0

“Os que se encantam com a prática sem a ciência são como os timoneiros que entram no navio
sem timão nem bússola, nunca tendo certeza do seu destino”
Leonardo da Vinci

Dedico
este trabalho a Deus pela força e
sabedoria ao longo da trajetória; à
minha mãe, à minha orientadora,
à minha namorada e aos meus
amigos por todo amor e apoio.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, por toda força e sabedoria dada. Por sempre me manter perseverante, mesmo diante das dificuldades que surgiram pelo caminho.

A minha mãe, Lucia Helena Ceia Toledo, que sempre me deu amor, nunca mediu esforços para me ajudar e sempre me motivou a continuar, mesmo nos momentos mais difíceis.

A minha orientadora, Professora Doutora Miliane Moreira Soares de Souza, por ter aceitado me orientar e, desde então, sempre me auxiliando nas tomadas de decisão e sempre procurando soluções para os problemas que surgiam ao longo da trajetória.

Ao meu amor, minha namorada, Taiane Maria Mello Mendonça, por estar sempre ao meu lado durante essa trajetória, sendo sempre companheira e me dando todo o apoio para que eu pudesse finalizar mais esse ciclo.

A minha co-orientadora, Professora Doutora Irene da Silva Coelho, minha co-orientadora, por toda ajuda e orientação, inclusive cedendo o espaço do laboratório sob sua coordenação, LABAC/LABGEN-UFRRJ, para a realização de parte do meu experimento.

A minha outra co-orientadora, Professora Doutora Dayanne Araújo de Melo, pela orientação, conhecimento e incentivo dados ao longo desses anos.

Ao Professor Doutor Ramon Loureiro Pimenta, por toda ajuda, inclusive me acompanhando ao local de coleta do meu experimento.

Ao mestre Mário Tatsuo Makita por toda a ajuda, ensinamento e apoio dentro e fora do ambiente do laboratório.

Ao Professor Doutor Huarrison Azevedo Santos e toda equipe do LASAVE-UFRRJ por todo o auxílio fornecido durante a realização do experimento.

A todos os amigos e colegas do Laboratório de Bacteriologia do Departamento de Microbiologia e Imunologia Veterinária da UFRRJ pela convivência, amizade, compreensão e incentivo.

A toda equipe do LABAC/LABGEN-UFRRJ, em especial a Davi Chimarelli, por toda ajuda oferecida para que o experimento fosse um sucesso.

À técnica Larissa Botelho pela oportunidade de utilização do equipamento de MALDI-TOF MS na Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Ao Curso de PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS da UFRRJ, e aos funcionários, pelo apoio em materiais e pelas condições que recebemos para trabalhar e estudar.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de estudos e pelo patrocínio concedido a diversos projetos, possibilitando desta forma, a aquisição de material e equipamentos e a realização dos experimentos.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001. Agradeço o financiamento desta pesquisa.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, pelos amigos que fiz e pela formação que recebi.

A todas as pessoas que contribuíram, direta ou indiretamente, para a execução desta dissertação.

BIOGRAFIA

Paulo Roberto Lima de Azevedo Junior é Médico Veterinário, especialista em Diagnóstico Microbiológico Veterinário pela UFRRJ. Formado em Medicina Veterinária pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ em janeiro de 2020.

Na graduação foi estagiário do Laboratório de Diagnóstico Microbiológico Veterinário (LDMV) da UFRRJ (2015). Em 2019 atuou como estagiário do professor Doutor Márcio Reis Pereira de Sousa, realizando trabalhos com termografia e bem-estar de aves destinadas ao abate. Em paralelo, foi estagiário de Hospital Veterinário de Pequenos Animais (HVPA) da UFRRJ e do professor Doutor Francisco de Assis Baroni, no Laboratório de Leveduras Patogênicas e Ambientais (LLPA) da UFRRJ, onde foi realizado seu estágio curricular supervisionado obrigatório para conclusão de curso.

Em 2020, foi aprovado no processo de seleção do Programa de Residência em Medicina Veterinária, para a área de diagnóstico microbiológico veterinário, sob supervisão do professor Dr. Francisco de Assis Baroni. Na residência, atuou no LDMV-UFRRJ, terminando a mesma em 2022.

Também em 2022, foi aprovado no processo de seleção do Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, nível Mestrado, sob a orientação da professora Dra. Miliane Moreira Soares de Souza.

RESUMO

AZEVEDO JUNIOR, Paulo Roberto Lima. **Análise da diversidade microbiana e do perfil de resistência à colistina em enterobactérias presentes em ambientes de produção avícola: um estudo comparativo com foco em Saúde Única.** 2024. 77p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). Instituto de Veterinária, Departamento de Microbiologia e Imunologia Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, RJ, 2024.

A avicultura é um dos setores agrícolas do agronegócio de maior crescimento ao redor do mundo. Dentre os principais produtores mundiais estão EUA, Brasil e China. Atualmente, reconhece-se o importante papel desempenhado pela microbiota e pelo microbioma na saúde, desempenho e bem-estar nas aves de produção. Nesse contexto, o uso de antimicrobianos como promotores de crescimento na indústria avícola é um dos fatores que aumentam a pressão de seleção ambiental, favorecendo a emergência e dispersão da resistência antimicrobiana, e consequentemente gerando impacto sobre a Saúde Única, uma vez que afeta o equilíbrio da interdependência entre a saúde humana, animal e ambiental. No contexto da produção de frangos de corte, a Saúde Única está relacionada à saúde do ambiente de produção, dos trabalhadores e dos consumidores. O foco do presente estudo é a resistência a colistina, uma polimixina (polimixina E) que possui amplo espectro de ação de contra bactérias Gram-negativas, promovida pelos genes *mcr*. Após a descoberta do gene plasmidial *mcr-1* em 2015, seu uso como promotor de crescimento foi banido em diversos países, incluindo o Brasil. Este trabalho objetivou avaliar a ocorrência, diversidade e resistência fenogenotípica à colistina de enterobactérias em ambientes de produção de avícola. Amostras oriundas de cloaca, traqueia e cama resultaram em 301 isolados, 162 (53,8%) de cloaca, 121 (40,2%) de traqueia e 18 (6%) do ambiente. Desse isolados, 175 (58,1%) foram Firmicutes, 120 (39,9%) foram Proteobacteria e 6 foram Actinobacteria. Em relação a gênero/espécie, 102 (33,9%) isolados foram *Staphylococcus* coagulase negativa (ECN); 82 (27,2%) *E. coli*; 53 (17,6%) *Enterococcus* spp.; 27 (9%) *Proteus mirabilis*; 10 (3,3%) *Bordetella hinzii*; 8 (2,7%) *Streptococcus* spp.; 7 (2,3%) *Ligilactobacillus salivarius*; 6 (2%) *Corynebacterium* spp.; 4 (1,3%) *Lactobacillus johnsonii*; 1 (0,3%) *Salmonella* spp. e 1 (0,3%) *Aerococcus viridans*. Dos 83 isolados testados fenotipicamente para resistência à colistina, 15 (18,1%) foram resistentes. Das 110 cepas de enterobactérias avaliadas para a detecção de genes *mcr*, 102 (92,7%) cepas foram positivas. Dessas 102 cepas positivas para *mcr*, 48 (47,1%) foram *mcr-1*, 42 (41,2%) *mcr-2*, 27 (26,5%) *mcr-3*, 61 (50%) *mcr-4*, 7 (6,7%) *mcr-5*, 40 (39,2%) *mcr-6*, 1 (1%) *mcr-7*, 4 (3,9%) *mcr-8* e 39 (38,2%) para *mcr-9*. Dos 269 genes detectados, 48 (17,8%) foram *mcr-1*, 42 (15,6%) *mcr-2*, 27 (10%) *mcr-3*, 61 (22,7%) *mcr-4*, 7 (2,6%) *mcr-5*, 40 (14,9%) *mcr-6*, 1 (0,4%) *mcr-7*, 4 (1,5%) *mcr-8* e 39 (14,5%) *mcr-9*. Dos 15 isolados resistentes à colistina, em 12 (80%) foram detectados *mcr*. Das 68 cepas sensíveis à colistina, foram detectados *mcr* em 63 (94%). Das 102 cepas (72,5%) eram *E. coli*, 27 (25,5%) *P. mirabilis* e 1 (1%) *Samonella* sp. Foram detectados 159 (59,1%) desses genes, em *E. coli*, 108 (40,1%) em *P. mirabilis* e 2 (0,7%) em *Salmonella* sp. Comparando os resultados com os obtidos por Pimenta (2018), observou-se que houve uma queda tanto na resistência à colistina, quanto na prevalência de *mcr-1*. Diversos gêneros/espécies de grande importância na Saúde Única são encontrados em ambientes de produção avícola e a circulação de genes da família *mcr* nestes ambientes ainda se encontra elevada, apesar do advento da IN45/2016, apontando para o fato de que o intervalo médio de 6 anos desse estudo após o banimento, ainda não foi suficiente para uma redução expressiva da circulação de *mcr* na produção avícola, o que representa um grave problema em Saúde Única.

Palavras-chave: avicultura, microrganismos, microbioma, genes, Saúde Única.

ABSTRACT

AZEVEDO JUNIOR, Paulo Roberto Lima. **Analysis of microbial diversity and colistin resistance profile of enterobacteria present in poultry production environments: a comparative study focusing on One Health.** 2024. 76p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). Instituto de Veterinária, Departamento de Microbiologia e Imunologia Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, RJ, 2024.

Poultry farming is one of the fastest-growing sectors in agribusiness worldwide. Among the top global producers are the USA, Brazil, and China. Currently, the important role played by microbiota and microbiome in the health, performance, and well-being of poultry is recognized. In this context, the use of antimicrobials as growth promoters in the poultry industry is one of the factors increasing environmental selection pressure, favoring the emergence and spread of antimicrobial resistance. This, in turn, impacts One Health by affecting the balance of interdependence between human, animal, and environmental health. In the context of broiler production, One Health is related to the health of the production environment, workers, and consumers. The focus of this study is on colistin resistance, a polymyxin (polymyxin E) with broad-spectrum activity against Gram-negative bacteria, promoted by the *mcr* genes. After the discovery of the plasmid-borne *mcr-1* gene in 2015, its use as a growth promoter was banned in several countries, including Brazil. This study aimed to assess the occurrence, diversity, and phenotypic-genotypic colistin resistance of enterobacteria in poultry production environments. Samples from cloaca, trachea, and litter resulted in 301 isolates: 162 (53.8%) from cloaca, 121 (40.2%) from trachea, and 18 (6%) from the environment. Of these isolates, 175 (58.1%) were Firmicutes, 120 (39.9%) were Proteobacteria, and 6 were Actinobacteria. Regarding genus/species, 102 (33.9%) isolates were coagulase-negative *Staphylococcus* (ECN); 82 (27.2%) were *E. coli*; 53 (17.6%) were *Enterococcus* spp.; 27 (9%) were *Proteus mirabilis*; 10 (3.3%) were *Bordetella hinzii*; 8 (2.7%) were *Streptococcus* spp.; 7 (2.3%) were *Lactobacillus salivarius*; 6 (2%) were *Corynebacterium* spp.; 4 (1.3%) were *Lactobacillus johnsonii*; 1 (0.3%) was *Salmonella* spp.; and 1 (0.3%) was *Aerococcus viridans*. Of the 83 isolates phenotypically tested for colistin resistance, 15 (18.1%) were resistant. Among the 110 strains of enterobacteria evaluated for *mcr* genes, 102 (92.7%) were positive. Of these 102 *mcr*-positive strains, 48 (47.1%) were *mcr-1*, 42 (41.2%) were *mcr-2*, 27 (26.5%) were *mcr-3*, 61 (50%) were *mcr-4*, 7 (6.7%) were *mcr-5*, 40 (39.2%) were *mcr-6*, 1 (1%) was *mcr-7*, 4 (3.9%) were *mcr-8*, and 39 (38.2%) were *mcr-9*. Out of 269 detected genes, 48 (17.8%) were *mcr-1*, 42 (15.6%) were *mcr-2*, 27 (10%) were *mcr-3*, 61 (22.7%) were *mcr-4*, 7 (2.6%) were *mcr-5*, 40 (14.9%) were *mcr-6*, 1 (0.4%) was *mcr-7*, 4 (1.5%) were *mcr-8*, and 39 (14.5%) were *mcr-9*. Among the 15 colistin-resistant isolates, *mcr* was detected in 12 (80%). Among the 68 colistin-sensitive strains, *mcr* was detected in 63 (94%). Of these, 102 (72.5%) were *E. coli*, 27 (25.5%) were *P. mirabilis*, and 1 (1%) was *Salmonella* sp. These genes were detected in 159 (59.1%) of *E. coli*, 108 (40.1%) of *P. mirabilis*, and 2 (0.7%) of *Salmonella* sp. Comparing the results with those obtained by Pimenta (2018), there was a decrease in both colistin resistance and the prevalence of *mcr-1*. Several genera/species of significant importance in One Health are found in poultry production environments, and the circulation of *mcr* family genes in these environments remains high despite the advent of IN45/2016, indicating that the average interval of 6 years since the ban has not been sufficient for a significant reduction in *mcr* circulation in poultry production, posing a serious One Health issue.

Keywords: aviculture, microorganisms, microbiome genes, One Health

LISTA DE ABREVIACÕES, SÍMBOLOS E FÓRMULAS

°C = Graus Celsius
μg = Micrograma
μL = Microlitro
μM = Micromolar
ABPA = Associação Brasileira de Proteína animal
AGCC = Ácido graxo de cadeia curta
AME = Agência de Medicina Europeia
ANVISA = Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APEC = *Escherichia coli* patogênica para aves
ATCC = American type culture collection (Coleção americana de culturas)
BHI = Brain and Heart Infusion (infusão de cérebro e coração)
CLSI = Clinical and Laboratory Standards Institute (Instituto Clínico e Laboratório de Padronização)
COVID 19 = Doença de Coronavírus 2019
DNA = Desoxirribonucleic acid (ácido desoxirribonucleico)
ECP = *Staphylococcus* colagulase-positiva
ECN = *Staphylococcus* coagulase-negativa
EUA = Estados Unidos da América
ESBL = Extensive spectrum β-lactamases (β-lactamases de espectro estendido)
FAO = Food and Agricultural Organization of the United Nations (Organização para Alimentação e Agricultura das Nações Unidas)
IN = Instrução normativa
ITU = Infecção do trato urinário
IMPG = Instituto de Microbiologia Paulo Goes
Kg = Quilograma
LabacVet = Laboratório de Bacteriologia Veterinária
LIMM = Laboratório de Investigação em Microbiologia Médica
M = Molar
MALDI-TOF MS = Espectrometria de Massa por tempo de Voo de Ionização / Dessorção por Laser Assistida por Matriz
MAPA = Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MDR = Multidroga-resistente
MgCl₂ = Cloreto de Magnésio
mL = Mililitro
mM = MicroMol
MRSA = *Staphylococcus aureus* metilina-resistente
ng = Nanograma
OIE = World Organization for Animal Health (Organização Mundial para Saúde Animal)
OMS = Organização Mundial da Saúde
OTU = Unidade Taxonômica Operacional
pb = Pares de base
PCR = Polymerase Chain Reaction (Reação em cadeia de polimerase)
pH = Potencial de hidrogênio
PIB = Produto Interno Bruto
PNSA = Programa Nacional de Sanidade Avícola
PRP = Programa de Redução de Patógenos
RDC = Resolução da Diretoria Colegiada
RNA = Ácido ribonucléico

rpm = Rotação por minuto

SIF = Sistema de Inspeção Federal

U = Unidade

Taq = *Thermus aquaticus*

TE = Tris-EDTA

TGI = Trato gastrointestinal

TOF= Tempo de voo

UFC = Unidade formadora de colônia

UFRJ = Universidade Federal do Rio de Janeiro

UFRRJ = Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

USDA = Unites States Department of Agriculture (Departamento de Agricultura dos Estados Unidos)

VRE = *Enterococcus faecium* resistente à vancomicina

LISTA DE GRÁFICOS

		Páginas
Gráfico 1	Prevalência de isolados por sítio.	21
Gráfico 2	Prevalência dos filos geral e por sítio.	21
Gráfico 3	Prevalência dos gêneros/espécies geral e por sítio.	22
Gráfico 4	Prevalência da resistência fenotípica à colistina.	29
Gráfico 5	Prevalência de cepas positivas e negativas para genes <i>mcr</i> .	29
Gráfico 6	Prevalência de genes <i>mcr</i> .	30
Gráfico 7	Porcentagem de cepas positivas e neativas para genes <i>mcr</i> .	31
Gráfico 8	Presença de genes <i>mcr</i> de acordo com o resultado fenotípico	34
Gráfico 9	Prevalência de <i>mcr</i> por gênero/espécie	34
Gráfico 10	Quantidade de genes <i>mcr</i> por gênero/espécie.	35
Gráfico 11	Comparação em relação à resistência fenotípica à colistina.	36
Gráfico 12	Comparação em relação à presença de <i>mcr</i> -1.	37

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Avicultura Mundial	3
2.2 Avicultura Nacional	5
2.3 O Conceito <i>One Health</i> e Aplicação na Produção Avícola	6
2.4 Microbiota e Microbioma na produção de frangos de corte	8
2.4.1 Trato Gastrointestinal (TGI)	8
2.4.2 Trato Respiratório	9
2.4.3 Principais filos da microbiota natural de frangos de corte e seus microrganismos de importância em Saúde Única	10
2.5 Colistina e genes <i>mcr</i>	12
3. OBJETIVOS	15
3.1 Objetivo Geral	15
3.2 Objetivos Específicos	15
4. MATERIAL E MÉTODOS	15
4.1 Amostragem	15
4.2 Isolamento e Identificação	16
4.3 Identificação Proteômica Através da Técnica de Espectrometria de Massa por Ionização a Laser Assistida (MALDI-TOF)	16
4.4 Detecção Fenotípica da Resistência à Colistina	17
4.5 Detecção Genotípica dos Isolados Avaliados	18
4.5.1 Extração do DNA pela técnica de lise térmica	18
4.5.2 Amplificação do gene 16S rDNA através da técnica da Polymerase Chain Reaction (PCR)	18
4.5.3 Detecção da resistência genotípica à colistina	18
4.6 Análise Estatística	19
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
5.1 Diversidade Bacteriana	19
5.2 Detecção da Resistência Fenogenotípica à Colistina	28
6. CONCLUSÕES	38
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39
8. ANEXOS	61

1. INTRODUÇÃO

A avicultura é um dos setores do agronegócio de maior crescimento ao redor do mundo (MOTTET & TEMPIO, 2017), sendo uma atividade que exerce um papel fundamental na economia mundial, principalmente nos países em desenvolvimento, fornecendo nutrição e contribuindo para o sustento de várias pessoas, especialmente daquelas que vivem em zonas rurais (VANDANA et al, 2020).

De acordo com o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) (2023) e a Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA) (2024), os Estados Unidos (EUA) ocupam a primeira posição no *ranking* em relação à produção de carne de frango, seguido pelo Brasil, em segundo e pela China, em terceiro. Já, segundo a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) (2023), Os EUA permanecem na primeira posição, porém a China ocupa a segunda colocação, seguida pelo Brasil na terceira. Quando se trata da produção de ovos, a China ocupa a primeira posição do *ranking*, seguida pelos EUA e Índia (WAHEED et al, 2020), ficando o Brasil na quinta posição (NAYALA et al, 2021).

Além de ser um dos maiores produtores de carne de frango, o país ocupa também a segunda posição no *ranking* de consumo mundial, ficando logo atrás dos EUA. Ademais, o Brasil é o país que mais exporta esse produto no mundo, sendo destinadas ao mercado externo 5.139 milhões de toneladas em 2023, o que representou 32,6% das exportações (ABPA, 2024).

A região do país que mais produz carne de frango é a região Sul, ficando responsável por 64,4% de todos os abates em 2017 (VOSS-RECH et al, 2019). Em relação aos estados, o maior produtor de carne de frango do Brasil é o estado do Paraná, com o Rio Grande do Sul em segundo e Santa Catarina em terceiro (ABPA, 2024).

O conceito de Saúde Única, foi estabelecido pela primeira vez pelo médico veterinário Calvin Schwabe na década de 1960 (ESTOEPANGESTIE, 2017). Este conceito surgiu através do reconhecimento da interdependência entre a saúde humana, animal e ambiental (MUMFORD et al, 2023), visando promover a colaboração interdisciplinar com o objetivo de enfrentar os desafios relacionados à saúde de maneira integrada (DOUPHRATE, 2021).

Os princípios que regem a Saúde Única são: integração, organização, complementação, cooperação e colaboração multidisciplinar (FRANCO & MINEIRO, 2024; HITZIGER et al, 2018; LIU et al, 2019; MUMFORD et al, 2023). Com isso, a Saúde Única possui diversas aplicações em vários campos distintos, como: vigilância e controle de zoonoses, segurança alimentar, combate à resistência antimicrobiana, entre outras (KATSAROU et al, 2021). Um

exemplo prático da atuação da Saúde Única inclui a vigilância de doenças como a gripe aviária e a COVID-19 (SHRETSHA et al, 2018).

Na produção avícola, o conceito de Saúde Única torna-se importante, pois esse setor agropecuário é um dos principais responsáveis pela disseminação de doenças zoonóticas, como a salmonelose (GUERRA-CENTENO et al, 2020) e a gripe aviária (REHMAN et al, 2022). Ademais, o uso indiscriminado de antimicrobianos na avicultura contribui para a disseminação da resistência antimicrobiana em bactérias (NHUNG; CHANSIRIPORNCHAI & CARRIQUE-MAS, 2017), o que reforça a importância desse setor agropecuário na tomada de decisões e ações voltadas as diretrizes da Saúde Única.

A microbiota e o microbioma desempenham papéis essenciais na saúde, desempenho e bem-estar nas aves de produção (DUNISŁAWSKA et al, 2024). O termo microbiota refere-se à comunidade de microrganismos, dentre eles bactérias, fungos e vírus que habitam no organismo desses animais (KHAN, 2021). Já o microbioma é o conjunto de genes que esses microrganismos albergam (LITVAK & BÄUMLER, 2019). No contexto da produção de frangos de corte, a Saúde Única implica que a microbiota das aves está intimamente relacionada à saúde do ambiente de produção, dos trabalhadores e dos consumidores (ALMATAWHA et al, 2023; CHOWDHURY et al, 2023).

Em relação à composição das microbiotas do trato gastrointestinal (TGI) e respiratório dos frangos de corte, ambas possuem como principais filos Firmicutes, Proteobacteria e Bacteroidetes, diferenciando-se somente em suas proporções (OLADOKUN & SHARIF et al, 2024). Esses microrganismos exercem funções fundamentais para a saúde desses animais, como digestão e absorção de nutrientes (CISEK & BINEK, 2014), proteção contra patógenos (DÍAS-CARRASCO et al, 2019) e imunomodulação (OLADOKUN & SHARIF, 2024).

Sobre a importância em Saúde Única, essa microbiota possui em sua composição diversos gêneros/espécies de importância, como *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Streptococcus* spp. (OMS, 2017), capazes de causar infecções brandas e severas em seres humanos (BARACCO, 2019; BAHRAMIANFARD et al, 2021; ELTAI et al, 2020; TONG et al, 2015; RAZA et al, 2018), além de poderem representar uma grande problemática quando se trata da resistência antimicrobiana (OMS, 2017).

A resistência antimicrobiana tem sido um desafio para a saúde pública, devido a emergência de bactérias multidrogarresistentes (MDR), sendo responsáveis por diversas infecções e mortes (APOSTOLAKOS & PICCIRILLO, 2018).

Colistina é um antimicrobiano integrante da família das polimixinas (polimixina E) que possui amplo espectro de ação contra bactérias Gram-negativas (TIMMERMANS et al, 2021).

Na medicina humana, seu uso foi amplamente reduzido a partir da década de 1970, por conta de toxicidez, sendo utilizado somente em casos de infecções causadas por bactérias Gram-negativas MDR (ANYANWU et al, 2023). Já na Medicina Veterinária, colistina era usada intensamente na prevenção ou tratamento de infecções intestinais em animais de produção (TIMMERMANS et al, 2021) e como promotor de crescimento (APOSTOLAKOS & PICCIRILLO, 2018).

Porém, após a descoberta do gene plasmidial *mcr-1* em 2015 (LIU et al, 2016), seu uso como promotor de crescimento foi banido em diversos países, como China, Japão, EUA, Canadá, entre outros (RHOUMA; MADEC & LAXMINARAYAN, 2023). No Brasil, seu uso como aditivo zootécnico foi proibido em 2016 através da Instrução Normativa (IN) 45 de 22 de novembro de 2016 (BRASIL, 2016).

O objetivo do presente estudo é avaliar a diversidade da microbiota presente em ambientes de produção avícola, assim como o perfil de resistência à colistina em enterobactérias integrantes dessa microbiota, buscando estabelecer um comparativo entre os dados anteriores a publicação da IN 45/2016/MAPA com uma abordagem focada em Saúde Única.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Avicultura mundial

A avicultura é uma das áreas da produção agrícola de maior crescimento no mundo (MOTTET & TEMPIO, 2017), devido à eficiência na convesão alimentar (ZAMPIGA, CALINE & SIRRI, 2021), ao curto ciclo da produção dos animais (NKUKUANA, 2018) e ao menor impacto ambiental quando comparado com a produção de carne de outras espécies animais (BABA et al, 2018). Ademais, facilmente se adapta a diversas condições socioeconômicas, indo de pequenas propriedades familiares a grandes operações industriais (PAL et al, 2020).

Essa atividade desempenha um papel crucial na economia global, principalmente, na dos países que estão em desenvolvimento, fornecendo uma fonte acessível de proteína animal para bilhões de pessoas ao redor do mundo (VANDANA et al, 2020), sendo mais acessível que a oriunda de outros animais de produção (BOGUCKA & STADNICKA, 2023; CAN & CAN;

2022), provendo nutrição e contribuindo para o sustento econômico de muitos indivíduos, principalmente nas áreas rurais (VANDANA et al, 2020).

Se considerarmos que atualmente existem, no mundo, mais de 23 bilhões de aves de criação, a média é de cerca de 3 aves para cada pessoa, o dobro do índice de 50 anos atrás. Essas aves fazem parte de um amplo sistema de produção, provendo principalmente carne, ovos, esterco, (MOTTET & TEMPIO, 2017) e farinhas que podem ser utilizadas como fonte de proteína na alimentação animal (MENGESHA, 2012), sendo o frango a principal espécie produzida (MOTTET & TEMPIO, 2017).

A produção mundial de aves tem aumentado de maneira constante com o passar dos anos. Em média, cerca de 5 bilhões de frangos são criados por ano como fonte de proteína animal (NAYALA et al, 2021; VANDANA et al, 2020; MOTTET & TEMPIO, 2017). Em 2020, estima-se que a produção de carne de frango atingiu aproximadamente 130 milhões de toneladas, enquanto a produção de ovos também apresentou números importantes, sendo superior a 80 milhões de toneladas no mesmo ano (AHMED et al, 2021; MEEL & SHARAM, 2021). Esses números não são consequência somente do crescimento populacional, mas também do menor custo e da mudança dos hábitos alimentares, com um aumento na preferência por fontes de proteína mais saudáveis, devido a seu baixo teor de gorduras saturadas e altos níveis de micronutrientes essenciais e sustentáveis, tornando a carne oriunda de aves e os ovos os alimentos mais consumidos no mundo (NAYALA et al, 2021; VANDANA et al, 2020; MOTTET & TEMPIO, 2017).

Esses alimentos são produzidos principalmente em larga escala e de forma intensiva, fazendo com que esse seja um dos subsetores agrícolas de maior crescimento, principalmente nos países em desenvolvimento (MOTTET & TEMPIO, 2017; NAYALA et al, 2021). Crescimento esse devido ao aumento da população e ocorrência da peste suína africana na Ásia (MASON-D'CROZ et al, 2020). Inclusive, a produção de carne de origem avícola mostrou um rápido aumento nas últimas décadas (MOTTET & TEMPIO, 2017). A média anual do aumento da produção de carne avícola foi de 4,5% nos últimos 50 anos, enquanto para a carne suína foi 2,1% e 1,5% para as carnes bovina, ovina e caprina (VANDANA et al, 2020).

De acordo com o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) (2023), o país norte americano ocupa a primeira posição no *ranking* de principais países produtores de carne de origem avícola. O Brasil ocupa a segunda posição do *ranking*, produzindo 14,833 milhões de toneladas seguido pela China, que está na terceira posição (UZENDUMLU & DILLI, 2022). Entretanto, o Brasil ocupa a primeira posição quanto à exportação desse

alimento, com 5.139 milhões de toneladas exportadas em 2023. Em relação à produção de ovos, a China ocupa a primeira posição do *ranking*, seguida pelos EUA e Índia (NAYALA et al, 2021; WAHEED et al, 2020), enquanto o Brasil fica na quinta posição, com uma produção de 52,4 bilhões de unidades em 2023, sendo consumidos 242 ovos por pessoa (ABPA, 2024).

2.2 Avicultura nacional

A avicultura é uma das principais atividades do agronegócio brasileiro, sendo considerada uma importante fonte de renda, empregos e alimentos. O Brasil aparece em destaque no cenário da produção mundial de carne de frango, desempenhando um papel crucial no mercado global (FARIAS et al, 2023).

Em relação ao consumo, o Brasil ocupa uma posição de destaque a nível global, tanto em consumo total quanto em consumo *per capita*, havendo um consumo de 45,2 kg por pessoa no ano de 2022. Dado isso, o país posiciona-se frequentemente logo atrás dos Estados Unidos, maior consumidor de carne de frango do mundo (ABPA, 2024).

O Brasil tem mantido seu reconhecimento como país livre de gripe aviária o que representa um fator de grande importância para suas exportações (RAUBER, 2023). A ausência de surtos da doença no país permite a manutenção da confiança dos mercados internacionais, fazendo com que o Brasil continue a ser um fornecedor confiável de carne de frango (SCHIDMIT et al, 2020). Apesar desse reconhecimento, já foram confirmados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, mais de 160 focos de Influenza Aviária de alta patogenicidade no território brasileiro (MAPA, 2024), doença responsável pela perda de milhões de aves em todo o mundo e que pode ser transmitida para humanos, consistindo em um problema de Saúde Pública (RIVETTI JR et al, 2024)

Os principais países importadores de carne de frango produzida no país em 2023 foram China, com 682.665 (13,61%) toneladas, seguida de Emirados Árabes e Japão, com 440.748 (8,79%) e 433.583 (8,65%) toneladas, respectivamente (ABPA, 2024). Esse setor contribui significativamente para o Produto Interno Bruto (PIB) do país, representando um percentual de 9,81% do PIB nacional no primeiro trimestre de 2021, sendo responsável pela geração de empregos para aproximadamente 10% da população economicamente ativa (CEPEA ESALQ/USP, 2021), além de uma receita de bilhões de reais por ano (ABPA, 2024).

A região Sul do país é a mais importante produtora de frangos, sendo responsável por 64,4% de todos os abates em 2017 (VOSS-RECH et al, 2019). Em relação aos estados, em 2023, Paraná apareceu como o maior produtor de carne de frango no Brasil, sendo responsável

por abater 2,090 bilhões de aves, equivalente a 39,47% dos abates no país. Santa Catarina e Rio Grande do Sul aparecem em seguida, responsáveis por 735 (13,88%) e 604 milhões de abates (11,04% dos), respectivamente. Sobre o destino dos produtos, o mercado interno é destino de 65,35% dessa produção, enquanto 34,65% destinam-se ao mercado externo (ABPA, 2024).

2.3 O Conceito Saúde Única e Aplicação na Produção Avícola

O conceito de Saúde Única surgiu através do reconhecimento da interdependência entre a saúde humana, animal e ambiental (MUMFORD et al, 2023) para a promoção de esforços conjuntos visando o combate aos desafios globais de saúde pública (SLEEMAN et al, 2019). Esse conceito também visa a promoção colaborativa interdisciplinar com o objetivo de enfrentar os desafios relacionados à saúde de maneira integrada (DOUPHRATE, 2021). Essa necessidade de cooperação multissetorial e interdisciplinar é fundamental para o entendimento de como controlar doenças emergentes, muitas das quais possuem origem animal. Com isso, a integração de cientistas veterinários na abordagem em Saúde Única é fundamental na resposta a ameaças pandêmicas e na eliminação gradual de antimicrobianos na produção animal (MORO, 2019).

Na década de 1960, o conceito *One Health* foi estabelecido pelo médico veterinário Calvin Schwabe (ESTOEPANGESTIE, 2017), porém suas bases filosóficas vêm dos primórdios da civilização humana, como, por exemplo, na Grécia Antiga (DAHAL & KHAN, 2014). Schwabe propôs em seu trabalho que os profissionais da saúde humana e veterinária trabalhassem em conjunto ao combate às diversas zoonoses. Primeiramente, o autor descreveu o termo como “*One Medicine*” (WOODS et al, 2018) e, desde então, a Saúde Única tem evoluído com uma abordagem global que reconhece que as saúdes humana, animal e ambiental estão interligadas, promovendo soluções integradas e sustentáveis para desafios emergentes e reemergentes (BARRETT & BOULEY, 2015).

A Saúde Única possui como princípios: integração, realizando ações nos níveis local, regional, nacional e global (HITZIGER et al, 2018); organização, através da coordenação e comunicação entre os diferentes setores (FRANCO & MINEIRO, 2024); complementação, reconhecendo que o que pode afetar um dos componentes (humano, animal ou ambiente), pode também afetar os outros (MUMFORD et al, 2023); cooperação e colaboração multidisciplinar, reunindo conhecimentos e esforços de múltiplas áreas (LIU et al, 2019).

Assim, a Saúde Única, como uma ideia que objetiva unir as áreas da saúde como um todo, possui diversas aplicações em vários campos distintos, como: vigilância e controle de zoonoses, monitorando e prevenindo doenças transmitidas entre humanos e animais; segurança

alimentar, através da garantia de alimentos seguros para o consumidor; combate à resistência antimicrobiana, com o uso responsável de antimicrobianos; entre outras (KATSAROU et al, 2021). Um exemplo prático da atuação da Saúde Única inclui a vigilância de doenças como, por exemplo, a gripe aviária e a COVID-19 (SHRETSHA et al, 2018). Outro exemplo está nos programas de vacinação conjunta para humanos e animais (CARPENTER et al, 2022). Esses exemplos mostram a importância da colaboração entre profissionais da medicina humana, animal e de especialistas em ciências ambientais.

Na avicultura, o conceito de Saúde Única reveste-se de importância pois esse setor agropecuário tem como desafios o controle da disseminação de doenças zoonóticas, como a salmonelose (GUERRA-CENTENO et al, 2020) e a gripe aviária (REHMAN et al, 2022). Vale ressaltar que, apesar do perigo da transmissão da salmonelose por produtos oriundos da avicultura, é relatada uma maior prevalência de *Salmonella* spp. em carcaças oriundas da produção de suínos (CHEN et al, 2019; RORTANA et al, 2021; ZHANG et al, 2018), o que mostra uma maior ameaça deste setor na disseminação da salmonelose.

Um dos motivos pelo qual a avicultura é um dos principais vetores de doenças zoonóticas no mundo é devido às infecções alimentares (CHAI et al, 2017), por isso a segurança alimentar se torna um componente crucial na Saúde Única. Ademais, o uso indiscriminado de antimicrobianos na avicultura contribui para a emergência e disseminação da resistência antimicrobiana em bactérias (NHUNG; CHANSIRIPORNCHAI & CARRIQUE-MAS, 2017), podendo acarretar o surgimento de microrganismos MDR (BROWER et al, 2017), o que representa um grande risco à saúde global. Os antimicrobianos utilizados na avicultura também podem causar impactos ambientais significativos, devido à contaminação dos ambientes de entorno das áreas de produção (SHEVCHENKO et al, 2019; TIAN et al, 2021). Tal contaminação também pode ser causada por gases (GRŽINIĆ et al, 2023), resíduos e emissões químicas (GERBER et al, 2007) e microrganismos (AHMED, 2021), reforçando a importância desse setor agropecuário na Saúde Única.

No Brasil, uma grande medida adotada foi a criação do Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA), publicado em 202 e atualizado em 2024. Esse programa possui dentre os principais objetivos a prevenção e o controle de doenças de interesse em avicultura e Saúde Pública como, por exemplo, as já mencionadas Influenza Aviária e Salmonelose (BRASIL, 2020).

2.4 Microbiota e Microbioma na produção de frangos de corte

A microbiota e o microbioma desempenham papéis essenciais na saúde, desempenho e bem-estar nas aves de produção (DUNISŁAWSKA et al, 2024). O termo microbiota refere-se à comunidade de microrganismos, dentre eles bactérias, fungos e vírus que habitam no trato gastrointestinal desses animais (KHAN, 2021). Já o microbioma é o conjunto de genes que esses microrganismos albergam (LITVAK & BÄUMLER, 2019) e que modulam várias de suas funções metabólicas (HOFFMANN et al, 2016). No contexto da produção de frangos de corte, a Saúde Única implica que a microbiota das aves está intimamente relacionada à saúde do ambiente de produção, dos trabalhadores e dos consumidores (ALMATAWHA et al, 2023; CHOWDHURY et al, 2023). Por exemplo, funcionários que trabalham em granjas avícolas possuem maior prevalência de doenças oculares, respiratórias e cutâneas relacionadas à atividade laboral do que qualquer outro tipo de profissão relacionada à criação de animais de produção (GAO et al, 2016).

2.4.1 Trato Gastrointestinal (TGI)

Sobre a microbiota do TGI dos frangos de corte, os microrganismos presentes desempenham papéis cruciais na digestão e absorção de nutrientes, seja na fermentação de fibras para a produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), responsáveis por nutrir as células intestinais, seja na metabolização desses nutrientes, auxiliando da digestão de proteínas e carboidratos (CISEK & BINEK, 2014). Ademais, essa comunidade desempenha uma importante função na saúde geral dessas aves, atuando na proteção contra patógenos via competição, excluindo microrganismos patogênicos (DÍAS-CARRASCO et al, 2019), além de atuar também na modulação do sistema imune (BORDA-MOLINA et al, 2018).

Para o estudo da microbiota do TGI em frangos de corte, amostras fecais são geralmente utilizadas por conta da facilidade de sua coleta. A composição dessa microbiota sofre com flutuações por conta da diversa contribuição de diferentes sítios do TGI (POURABEDIN & ZAO, 2015). Em frangos de corte, que possuem a microbiota intestinal com menor diversidade (POURABEDIN & ZAO, 2015), Stanley e colaboradores (2015) observaram em seu estudo que cerca de 88% das Unidades Taxonômicas Operacionais (OTU), compreendendo 99,25% das sequências, foram compartilhadas entre as amostras cecais e fecais.

Em relação à composição da microbiota do TGI de frangos de corte, os principais filos presentes no TGI desses animais são Firmicutes, Proteobacteria e Bacteroidetes (POURABEDIN & ZAO, 2015). Essa varia de acordo com a idade, ambiente e manejo dos

animais (BINDARI & GERBER, 2022). Sobre a influência da idade na composição da microbiota, a sua riqueza e diversidade aumentam durante as primeiras semanas de vida das aves (LIU et al, 2023). Após isso, por volta das 4 semanas de idade, sua composição taxonômica se altera, tornando-se mais madura e estável, com um aumento na população de Firmicutes, que se torna exclusivamente o principal filo, e diminuição de Proteobacteria principalmente (YANG et al, 2022).

2.4.2 Trato Respiratório

Em relação à microbiota natural do trato respiratório de frangos de corte, antigamente, acreditava-se que o esse sítio era estéril nas aves, porém, hoje em dia, há evidências que mostram o contrário. Atualmente essa microbiota é conhecida por sua complexidade, com Firmicutes, Proteobacteria e Bacteroidetes como os principais filos que a compõe, compreendendo principalmente bactérias anaeróbicas facultativas, como *Lactobacillus* spp e *Staphylococcus* spp. (OLADOKUN & SHARIF, 2024).

A composição da microbiota do trato respiratório de frangos de corte pode ser influenciada por diversos fatores, intrínsecos e extrínsecos (IVULIC et al, 2022). Intrínsecos como raça e idade, e extrínsecos como sistema de produção, manejo e fatores ambientais (OLADOKUN & SHARIF, 2024).

É reconhecido que as comunidades bacterianas são importantes para a manutenção da saúde do trato respiratório (IVULIC et al, 2022). Em frangos de corte, a microbiota do trato respiratório exerce diversas funções que contribuem para a saúde e bem-estar das aves, como proteção contra agentes patogênicos, devido à competição com estes por nutrientes, prevenindo o desenvolvimento de doenças e modulação da resposta imune local (OLADOKUN & SHARIF, 2024).

Interessante destacar que há uma comunicação bidirecional entre a microbiota do trato respiratório e do TGI, denominada eixo intestino-pulmão (OLADOKUN & SHARIF, 2024). Por exemplo, distúrbios na microbiota do trato respiratório podem afetar a imunidade do sistema gastrointestinal através de imunorregulação (WANG et al, 2020). Com isso, estudos analisando essa interação começaram a ser realizados (ANAND & NANDE, 2018; DANG & MARSLAND, 2019; DUMAS et al, 2018).

Importante ressaltar também que as aves podem ser reservatórios de diversos patógenos zoonóticos e, com isso, entender a microbiota natural do trato respiratório desses animais é importante também para a saúde humana (SHABIR et al, 2015).

2.4.3 Principais filos da microbiota natural de frangos de corte e seus microrganismos de importância em saúde Única

Em relação aos principais filos que compõem a microbiota natural em frangos de corte o filo Firmicutes é composto por bactérias Gram-positivas que abrange uma ampla diversidade de microrganismos, sendo encontrados em diversos ambientes, como solo, água, e TGI de humanos e animais (FILIPPIDOU et al, 2016; KIM et al, 2016; SEONG et al, 2018; SHERIDAN et al, 2019). Essas bactérias caracterizam-se por apresentar parede celular espessa, podendo apresentar diferentes morfologias, como cocos, bastonetes ou formas esporuladas (GALPERIN et al, 2022; KIM et al, 2016).

Os microrganismos constituintes desse filo, exercem papéis fundamentais na saúde dos frangos de corte, como, por exemplo, manutenção da saúde intestinal, promovendo um ambiente ideal para a digestão e absorção de nutrientes (XIAO et al, 2017); digestão de carboidratos complexos e fibras (LOIUS et al, 2007); maior crescimento e desempenho (MARDANOVA et al, 2020); produção de substâncias antimicrobianas e competem por nutrientes, inibindo o crescimento de patógenos (GAGGIÀ; MATTARELLI; BIAVATI, 2010). Dentre os gêneros deste filo presentes na microbiota intestinal de frangos de corte que possuem importância em Saúde Única estão *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp. e *Streptococcus* spp. (OMS, 2017).

Em relação os gêneros de interesse em Saúde Única, *Staphylococcus* spp, principalmente *Staphylococcus aureus*, podem causar diversas infecções em humanos, desde dermatite e abscessos, a endocardite, osteomielite e sepse (TONG et al, 2015). Além disso, a resistência de *Staphylococcus* spp. é preocupação mundial, já que *S. aureus* resistentes à meticilina (MRSA) é responsável por complicações significativas no tratamento de infecções causadas por esse agente (UHLEMANN et al, 2014), sendo classificado como agente de prioridade alta pela OMS (2017).

Enterococcus spp., principalmente *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium* são agentes causadores de infecções nosocomiais em humanos, como infecções do trato urinário (ITU), bacteremia e endocardite (RAZA et al, 2018). Inclusive, ITU é a principal infecção causada por *Enterococcus* spp. (REYES, ZERVOS & JOHN, 2017). Sua importância em Saúde Única se dá por, além de causarem infecções em animais e humanos, pela presença de cepas de *E. faecium* resistentes à vancomicina (VRE), agente classificado como de prioridade alta pela OMS (2017) e conhecido por sua prevalência significativa em ambientes hospitalares, o que representa um grande desafio para a saúde pública (VAN TYNE et al, 2019).

Outro gênero integrante do filo Firmicutes de importância na medicina humana é *Streptococcus* spp., que contém agentes causadores de infecções simples até doenças invasivas graves (BARACCO, 2019). Esse grupo de microrganismos pode causar infecções como meningite, septicemia e artrite (FENG et al, 2014). Além das infecções, *Streptococcus* spp. podem produzir toxinas que danificam a célula do hospedeiro e, consequentemente, contribuem para a patogênese das infecções (BARNETT et al, 2015). *Streptococcus* spp. também representam uma grande ameaça quando se trata de resistência antimicrobiana. Além da resistência a antimicrobianos comuns, como tetraciclina e macrolídeos (GLAJZNER, SZEWCZYK & SZEMRAJ, 2021), *Streptococcus pneumoniae* não suscetível à penicilina é classificado pela OMS (2017) como agente de prioridade média.

Proteobacteria é um filo composto por microrganismos Gram-negativos que apresenta uma grande variedade de formas celulares, incluindo bastonetes, filamentos e espiroquetas (SEONG et al, 2019). Esse filo possui uma grande complexidade e diversidade funcional (WAITE et al, 2020), sendo considerado o filo de maior prevalência (MYASHITA, 2015). Os microrganismos integrantes desse filo estão divididos em 8 classes: Alphaproteobacteria, Betaproteobacteria, Gammaproteobacteria, Deltaproteobacteria, Epsilonproteobacteria, Zetaproteobacteria, Acidithiobacillia e Oligoflexia (SEONG et al, 2019).

Em frangos, os agentes que constituem esse filo possuem importantes papéis como produção de AGCC's, que são importantes para a saúde intestinal e metabolismo desses animais, resultado da fermentação de carboidratos que ocorre no intestino dos mesmos (YANG et al, 2019), e prevenção contra a colonização por agentes patogênicos, devido a competição por nutrientes e produção de substâncias antimicrobianas (RUBIO et al, 2015).

Apesar de exercerem funções importantes no organismo dessas aves, existem agentes causadores de infecções nesses animais de extrema importância que compõem filo, como no caso de *E. coli* patogênica para aves (APEC), agente causador da colibacilose, infecção que afeta os sistemas respiratório e digestivo dos animais, gerando grandes perdas econômicas no setor avícola (NOLAN et al, 2013) e *Salmonella* spp., agentes causadores da salmonelose, doença caracterizada por sintomas sistêmicos e alta mortalidade (LENCHENKO et al, 2019).

Na Saúde Única, os dois agentes citados acima possuem importância, pois são importantes causadores de infecções alimentares em humanos (BAHRAMIANFARD et al, 2021; ELTAI et al, 2020). *E. coli*, em humanos pode colonizar o intestino, podendo causar doenças em trato urinário, meningites, peritonites e septicemias (ELTAI et al, 2020). Já *Salmonella* spp. além de serem os principais agentes no mundo responsáveis por infecções

alimentares (BAHRAMIANFARD et al, 2021), podem também causar infecções através do contato direto com animais infectados (FOLEY, LYNNE & NAYAK, 2008).

Além de causarem infecções em animais e humanos, esses agentes são de grande importância em Saúde Única por representarem riscos em relação à resistência antimicrobiana (AHMED et al, 2019; DA SILVA et al, 2023). Ademais, por serem representantes da família *Enterobacteriaceae* (ROCK & DONNENBERG, 2014), são consideradas de prioridade crítica pela OMS (2017), caso sejam resistentes a carbapenêmicos e produtoras de betalactameses de espectro estendido (ESBL). Já, em relação somente a *Salmonella* spp., caso sejam resistentes às fluoroquinolonas, são considerados agentes de prioridade alta (OMS, 2017).

Em relação a Bacteroidetes, esse filo é composto por bactérias Gram-negativas, não formadoras de esporos (RUSSEL et al, 2014) e que possuem uma grande variabilidade genética, permitindo a esses microrganismos se adaptarem a diferentes condições ambientais e desempenharem diversas funções metabólicas (MCKEE et al, 2021).

Essas bactérias desempenham funções de grande importância no microrganismo das aves como: digestão de componentes complexos e absorção de nutrientes, resultando em uma melhor conversão alimentar e ganho de peso (XIAO et al, 2017); produção de AGCC's utilizados como fonte de energia pelos animais (ZENG et al, 2024), além de estarem relacionados à manutenção de uma microbiota intestinal saudável (YADAV et al, 2021).

Na Saúde Única, os microrganismos que constituem esse filo possuem importância, pois estão presentes em diversos ambientes, podendo estar associados com doenças metabólicas, como obesidade e diabetes tipo 2 (JOHNSON et al, 2017), além de possuírem diferentes mecanismos de resistência antimicrobiana (CULLEN et al, 2015).

2.5 Colistina e genes *mcr*

Colistina é um polipeptídeo catiônico pertencente à família das polimixinas (polimixina E) que foi descoberta em 1948 (STREINU-CERCEL, 2014). É um antimicrobiano produzido pela bactéria *Bacillus polymyxa* (APOSTOLAKOS & PICCIRILLO, 2018) e possui amplo espectro de atividade contra bactérias Gram-negativas (TIMMERMANS et al, 2021; VALIAKOS & KAPNA, 2021).

O modo de ação da colistina consiste no deslocamento de cátions bivalentes de lipídios de membrana, ligando-se ao lipídio A do lipopolissacarídeo (LPS) na membrana externa de bactérias Gram-negativas, neutralizando-o. Esta interação eletrostática entre o antimicrobiano (carregado positivamente) e o LPS (carregado negativamente) leva à desestruturação da

membrana celular bacteriana, com extravasamento do conteúdo celular, levando, consequentemente à morte do microrganismo (APOSTOLAKOS & PICCIRILLO, 2018). Esse mecanismo torna a colistina importante no tratamento de sepses causadas por bastonetes Gram-negativos (AMBREEN et al, 2020; MARKOU et al, 2003)

Na medicina humana, o uso da sistêmico da colistina foi amplamente reduzido a partir da década de 1970, por tratar-se de um antimicrobiano nefrotóxico e neurotóxico, sendo utilizado somente em casos de infecções causadas por bactérias Gram-negativas MDR (ANYANWU et al, 2023).

Na medicina veterinária, colistina era usada intensamente na prevenção ou tratamento de infecções intestinais em animais de produção (TIMMERMANS et al, 2021) e como promotor de crescimento (APOSTOLAKOS & PICCIRILLO, 2018). Em frangos, seu uso auxilia no ganho de peso e no aumento da ingestão de alimento (VALIAKOS & KAPNA, 2021).

Até recentemente, pensava-se que resistência a este antimicrobiano era causada somente por mutações no cromossomo, além de outras mutações nos genes *pmrABCE* (TIMMERMANS et al, 2021), *phoPQ*, *mgrB* e *csrAB*, sendo disseminados verticalmente entre os clones das bactérias. Com isso, havia baixo interesse na resistência à colistina, pois essas mutações cromossômicas são autolimitantes por natureza (ANYANWU et al, 2021). Entretanto, em 2015, na China, foi demonstrada, pela primeira vez a transferência do gene plasmidial de resistência à colistina, *mcr-1*, em isolados de *E. coli* de origem animal e humana (LIU et al, 2016). Esse gene codifica a enzima fosfoetanolamina transferase (TIMMERMANS et al, 2021), que modifica o lipídio A, reduzindo sua atração pela colistina (VALIAKOS & KAPNA, 2021).

Após a descoberta de *mcr-1*, outros 9 genes *mcr* foram reportados em diversas espécies de enterobactérias (TIMMERMANS et al, 2021), totalizando 10 genes *mcr* (AL-MIR et al, 2021), inclusive em *Salmonella* spp., sendo detectado de suínos, bovinos e aves (TIMMERMANS et al, 2021). Esses genes têm sido identificados de diversas fontes em mais de 60 países em 6 dos 7 continentes (ANYANWU et al, 2021). Todos os genes *mcr* detectados são similares uns aos outros, homólogos e geram o mesmo mecanismo de resistência à colistina (VALIAKOS & KAPNA, 2021), sendo os genes *mcr-1*, 3 e 9 os mais disseminados pelo mundo (AL-MIR et al, 2021; BITAR et al, 2020; VALIAKOS & KAPNA, 2021). A descoberta desses genes representa um mecanismo fácil de transferência da resistência a colistina que é utilizada como último recurso para o tratamento de enterobactérias resistentes a carbapenêmicos (JAMIN et al, 2021).

Genes *mcr* têm sido amplamente descritos em diversos cenários da produção animal, sendo notavelmente descritos no setor de criação de aves por todo o mundo. Além de presentes em animais vivos, esses genes foram também detectados em carnes comercializadas, sugerindo a possibilidade de transferência desses genes para humanos através de carnes mal-cozidas ou por contaminação cruzada (AL-MIR et al, 2021).

Por ser plasmidial, a replicação de DNA acontece independentemente dos cromossomos e os plasmídeos conjugativos de alta mobilidade carregam genes de resistência, o que permite a sobrevivência bacteriana e a rápida disseminação de microrganismos resistentes (ANYANWU et al, 2021). Após essa descoberta, a colistina que era classificada pela Agência de Medicina Europeia (AME) como um antimicrobiano de baixo risco de transferência de genes de resistência, foi classificada como de alto risco de transferir esses genes (TIMMERMANS et al, 2021), sendo utilizada somente para o tratamento de doenças em que não há outras alternativas de terapia (VALIAKOS & KAPNA, 2021) causadas por bastonetes Gram-negativos. Além disso, a OMS classificou microrganismos resistentes à colistina que possuem genes *mcr* como de prioridade alta (ANYANWU et al, 2021).

Na produção avícola, *mcr-1* é o gene mais comumente encontrado, principalmente nos plasmídeos IncX4 e IncI2. Esses plasmídeos possuem grande capacidade de disseminação, explicando provavelmente sua grande dispersão geográfica e sua ocorrência em vários hospedeiros (AL-MIR et al, 2021). Esse gene foi identificado em mais de 11 espécies de enterobactérias (VALIAKOS & KAPNA, 2021).

Genes *mcr* plasmidiais são um problema de nível internacional, pois eles podem ser transferidos horizontalmente entre bactérias e podem se disseminar rapidamente pelo mundo. Por isso, é importante conhecer quais bactérias resistentes à colistina carregam genes *mcr* e quais poderiam transferir esses genes (TIMMERMANS et al, 2021).

A administração de colistina tem sido fortemente regulada ao redor do mundo há mais de 6 décadas e, apesar da produção mundial desse antimicrobiano ter sido reduzida de 13.746 toneladas em 2016 para 4.292 toneladas em 2019, a produção avícola ainda é responsável por mais de 49% do seu uso, sendo maior que a quantidade utilizada na produção de suínos. Diante disso, o setor de produção de aves é considerado um dos potenciais reservatórios de microrganismos resistentes à colistina capazes de causar infecções intestinais e extraintestinais em humanos. Assim, a possibilidade da transferência de plasmídios contendo genes *mcr* para humanos e, também para o ambiente consiste em uma ameaça à saúde global (ANYANWU et al, 2023).

No Brasil, o uso de colistina na alimentação animal foi proibido pelo MAPA, em novembro de 2016, a partir da IN45 (ANYANWU et al, 2021). Esse ato normativo proíbe, em todo o território nacional, a importação e a fabricação de sulfato de colistina com a finalidade de aditivo zootécnico melhorador de desempenho, sendo permitido o seu uso terapêutico (BRASIL, 2016).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar a ocorrência e diversidade genética de microrganismos bacterianos, e a resistência fenogenotípica à colistina de enterobactérias em ambientes de produção de avícola, incluindo aves, camas aviárias, solos e resíduos biológicos, de modo a estabelecer, dentro de uma perspectiva interdisciplinar voltada ao conceito de Saúde Única, o papel destes ambientes na emergência e disseminação de clones bacterianos resistentes.

3.2 Objetivos Específicos

- Isolar e identificar fenogenotipicamente as espécies bacterianas circulantes;
- Monitorar a ocorrência de resistência fenogenotípica à colistina em cepas de *E. coli* e outros bastonetes Gram-negativos;
- Avaliar o impacto da IN/45 na prevalência de genes *mcr*, comparando essa prevalência em cepas obtidas no período pré-IN/45 com as obtidas pós-IN/45.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Amostragem

As amostras foram coletadas em uma granja de frango de corte localizada na cidade de São José do Vale do Rio Preto, Região Serrana do estado do Rio de Janeiro, no mês de abril de 2023. Foi realizada uma visita à propriedade, sendo realizada coleta em 25 animais da linhagem Cobb; com 38 dias de idade; sadios; pesando em média aproximadamente 2 kilogramas (kg); vacinados contra as doenças de Marek, Gumboro, boubá aviária, bronquite aviária e Newcastle; e já tendo cumprido o período de carência de 10 dias de uso de promotor de crescimento na ração. Aves que não estivessem se alimentando no momento da coleta foram selecionadas a fim de evitar uma possível contaminação das amostras com ração. A contenção das aves foi

realizada pelo dorso, com as asas fechadas junto ao corpo, por integrante da equipe do Laboratório de Bacteriologia Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (LABACVET-UFRRJ) devidamente treinado, enquanto introduziam-se *swabs* na luz da traqueia e da cloaca pelo responsável pela coleta. Para a antissepsia das mãos foi utilizado álcool 70%. Ao todo foram utilizados 75 *swabs*, sendo 25 *swabs* de traqueia e 50 *swabs* de cloaca. Para a avaliação do ambiente, foram realizados 4 *swabs* de arrasto (2 com o pé direito e 2 com o pé esquerdo). Os 25 *swabs* de traqueia foram acondicionados em tubos de ensaio contendo caldo Brain and Heart Infusion (BHI) (Kasvi® - Paraná, Brasil) e, dos 50 *swabs* de cloaca, 25 foram acondicionados em tubos de ensaio contendo caldo BHI (Kasvi® - Paraná, Brasil) e 25 em tubos de ensaio contendo caldo de enriquecimento seletivo para *Salmonella* spp., Tetracionato de Kauffmann (Kasvi® - Paraná, Brasil). Dos 4 *swabs* de arrasto, 1 de cada pé foi acondicionado em frascos Erlenmeyer contendo caldo BHI (Kasvi® - Paraná, Brasil) e 1 de cada pé em frascos Erlenmeyer contendo caldo Tetracionato Kauffmann (Kasvi® - Paraná, Brasil). Após acondicionadas, as amostras foram transportadas em temperatura ambiente e remetidas imediatamente ao LABACVET-UFRRJ. Os critérios e metodologia utilizados na coleta do material foram submetidos e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto de Veterinária da UFRRJ certificado nº 6239180418 (anexo II).

4.2 Isolamento e Identificação

Para os *swabs* de cloaca e arrasto, os isolamentos primários foram realizados em meio seletivo Àgar MacConnkey (MC-HiMedia® - Maharashtra, Índia), Àgar *Salmonella*-Shigella (SS-HiMedia® - Maharashtra, Índia), Àgar Manitol Vermelho de Fenol (AMVF-HiMedia® - Maharashtra, Índia), e Àgar Azida (AZD-HiMedia® - Maharashtra, Índia), enquanto, que para os *swabs* de traqueia, foram utilizados os meios Àgar Mac Connkey (MC-HiMedia® - Maharashtra, Índia), Àgar Manitol Vermelho de Fenol (AMVF-HiMedia® - Maharashtra, Índia), e Àgar Azida (AZD-HiMedia® - Maharashtra, Índia). As placas foram incubadas em estufa a 37 °C por 24 horas, sendo que as placas contendo Àgar Azida foram incubadas em condição de microaerofilia.

4.3 Identificação Proteômica Através da Técnica de Espectrometria de Massa por Ionização a Laser Assistida (MALDI-TOF)

Todos os isolados obtidos através do isolamento nos meios anteriormente mencionados foram preparados para identificação proteômica realizada no Laboratório de Investigação em

Microbiologia Médica (LIMM) do Instituto de Microbiologia Paulo Goes (IPMG) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ).

Para tal, as cepas foram cultivadas em Ágar CLED a 37 °C por 24 horas. Cada cultura bacteriana foi transferida para a microplaca (96 MSP, Bruker® - Billerica, EUA). Ao sedimento bacteriano foi adicionada uma solução de lise (ácido fórmico 70%, Sigma-Aldrich® - Vermont, EUA) em quantidade suficiente para cobrir o sedimento bacteriano. Em seguida, 1µL de solução matriz (ácido alfa-ciano-4-hidroxi-cinâmico diluído em acetonitrila 50% e ácido trifluoroacético 2,5%, Sigma-Aldrich® - Vermont, EUA) foi utilizada para cobrir o extrato bacteriano para finalmente ser processado. Os espectros de cada amostra são gerados em um espectrômetro de massa (MALDI-TOF Microflex Bruker, Bruker® - Billerica, EUA) equipado com laser de 337 nm de nitrogênio no modo linear controlado pelo programa FlexControl 3.3 (Bruker® - Billerica, EUA). Os espectros são coletados na faixa de massas entre 2.000-20.000 m/s e, posteriormente analisados pelo programa MALDI Biotyper 2.0 (Bruker® - Billerica, EUA), com as configurações padronizadas para a identificação bacteriana. O programa confronta os espectros da amostra desconhecida com amostras de referência em um banco de dados. Os resultados obtidos variam em uma escala que vai de zero a três, sendo que, quanto maior o valor, mais confiável será a identificação.

4.4 Detecção Fenotípica da Resistência a Colistina

O teste realizado para a detecção da resistência fenotípica a colistina foi a técnica do Ágar Screen. Após 18 a 24 horas de incubação a 35 °C, as colônias das enterobactérias obtidas foram ressuspensas em solução salina a 0,9% até obter-se uma turbidez equivalente à escala 0,5 de McFarland, correspondente a uma concentração de, aproximadamente, $1,5 \times 10^8$ UFC/mL sobre a superfície do Ágar Muller-Hinton suplementado com 2µg/mL e 4µg/mL de colistina. Em seguida, as placas foram incubadas a $34^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 horas e, após esse período, foi realizada a visualização minuciosa com o objetivo de verificar a presença de pequenas colônias ou crescimento em filme. O valor de corte utilizado foi de $\geq 2\mu\text{g/mL}$ (NORDMANN et al, 2016; PIRS et al, 2017). Como controle foi utilizada a cepa padrão *Escherichia coli* ATCC25922.

4.5 Detecção Genotípica dos Isolados Avaliados

4.5.1 Extração do DNA pela técnica de lise térmica

A extração do DNA foi realizada pela técnica de lise térmica descrita por BUYUKCANGAS e colaboradores (2013), sendo realizadas modificações estabelecidas pelo LABAC-VET. Os isolados foram cultivados em 5mL de caldo BHI (Kasvi® - Paraná, Brasil) a 35 °C por 24 horas. Após esse período, aproximadamente 1mL dos caldos foram vertidos em microtubos de 1,5mL e centrifugados a 13.500 rotações por minuto (rpm), por 2 minutos, com o sobrenadante sendo descartado. Em seguida, as células foram ressuspensas em 200µL de água ultrapura e agitadas em vótex, passando por incubação a 100°C por 10 minutos. Decorrido esse período, os microtubos foram esfriados em temperatura ambiente e, em seguida, centrifugados a 12.500 rpm por 2 minutos. Na sequência, aproximadamente 180µL do sobrenadante foram transferidos para novos microtubos (600µL) que foram armazenados a - 20°C.

4.5.2 Amplificação do gene 16S rDNA através da técnica da Polymerase Chain Reaction (PCR)

Após realizada a extração rápida do DNA genômico bacteriano, foi realizada a confirmação das cepas isoladas através da amplificação da região 16S do rDNA (27f e 1512r) (SUZUKI & GIOVANNONI, 1996) do genoma bacteriano, gerando um fragmento de 1500 pares de base (pb) pela técnica da PCR. O preparo do mix da reação foi realizado utilizando 2,5µL de Buffer 10X (10mM Tris-HCl (pH 9,0) (Invitrogen® - Massachusetts, EUA), 1,5µL de MgCl₂ (20mM) (Invitrogen® - Massachusetts, EUA), 1,5µL de trifosfato de desoxinucleotídeo (0,2mM) (Invitrogen® - Massachusetts, EUA), 0,2µL de Taq DNA polimerase (1U) (Fermentas® - Massachusetts, EUA), 1µL de cada *primer*, 2µL do DNA extraído e complementado com água ultrapura, totalizando um volume de 25µL de reação.

4.5.3 Detecção da resistência genotípica à colistina

Todas as cepas de enterobactérias foram submetidas à pesquisa de genes associados à resistência à colistina (*mcr*). Para tal detecção, foi realizada a técnica da PCR *multiplex*. O preparo do mix da reação foi realizado utilizando 2,5µL de Buffer 10X (10mM Tris-HCl (pH 9,0) (Invitrogen® - Massachusetts, EUA), 1,5µL de MgCl₂ (20mM) (Invitrogen® - Massachusetts, EUA), 1,5µL de trifosfato de desoxinucleotídeo (0,2mM) (Invitrogen®), 0,2µL

de Taq DNA polimerase (1U) (Fermentas® - Massachusetts, EUA), 0,25µL de cada *primer* e complementado com água ultrapura, totalizando um volume de 25µL de reação.

4.6 Análise Estatística

Foi realizado o teste de 2 amostras para igualdade de proporções com correção de continuidade, segundo proposto por Newcombe (1998), seguido do tamanho do efeito “V de Cramer”. A interpretação dos resultados foi realizada seguindo Cohen (1988), de acordo com os graus de liberdade.

O teste foi feito utilizando o *software* R versão 4.2.2 e foi adotado o nível de significância de 5%.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Diversidade Bacteriana

A microbiota intestinal dos animais de produção é complexa, dinâmica e variável (ROTHROCK JR et al, 2021). Os gráficos 1 e 2 mostram a distribuição quantitativa dos isolados por sítio e a distribuição dos filos de uma maneira geral e por sítio, respectivamente. De acordo com os resultados presentes no gráfico 1, foram obtidos no total 301 isolados, sendo 162 (53,8%) oriundos de cloaca, 121 (40,2%) oriundos de traqueia e 18 (6%) do ambiente. Desses 301 isolados, quando analisamos a diversidade por filo, Firmicutes foi o que apresentou o maior número de isolados, com 175 (58,1%), sendo 94 de cloaca, 72 de traqueia e 9 de ambiente; Proteobacteria foi representado por 120 isolados (39,9%), sendo 64 de cloaca, 47 de traqueia e 9 de ambiente; e, por fim, foram obtidos 6 isolados (2%) do filo Actinobacteria, sendo 5 oriundos de cloaca e 1 oriundo de traqueia.

Rychlik, Karasova e Crhanova (2024) corroboram os dados obtidos no presente estudo de que a microbiota intestinal de frangos é primariamente composta pelos filos Firmicutes e Proteobacteria. Cabe ressaltar que esses filos bacterianos prevalecem mesmos quando as aves são criadas com outras espécies de animais (ROTHROCK JR et al, 2021). Em outro estudo também realizado na cidade de São José do Vale do Rio Preto, foi observado que Firmicutes estava entre os dois filos mais isolados a partir do solo dos galpões de criação das aves, sendo essa prevalência maior, inclusive quando comparado com outros tipos de solo avaliados (PARENTE et al, 2021).

Compreender a diversidade da microbiota intestinal em frangos de corte é essencial, pois esses microrganismos estão intimamente envolvidos com saúde e bem-estar dessas aves (SERGEANT et al, 2014). Uma microbiota intestinal saudável promove diversas funções no hospedeiro, como assimilação de nutrientes, produção de vitaminas e aminoácidos, prevenção contra patógenos (DI MARCANTONIO et al, 2022; SERGEANT et al, 2014), e modulação do sistema imune (DI MARCANTONIO et al, 2022). Ademais, Firmicutes é o filo em que estão compreendidos os principais microrganismos responsáveis pelo aumento de performance (POURABEDIN & ZHAO, 2015), capazes de aumentar o peso corporal do hospedeiro por afetar a habilidade de extrair energia oriunda da dieta (YANG et al, 2022). Por exemplo, no estudo conduzido por Zhang e colaboradores (2022), Firmicutes se apresentava em maior prevalência em animais com maior peso do que os que apresentavam menor peso.

Proteobacteria, segundo filo com maior número de representantes obtidos no presente estudo, pode exercer funções importantes no organismo de frangos de corte, como já mencionado (RUBIO et al, 2015; YANG et al, 2019). Porém sua maior importância se dá pela presença de agentes que podem causar doenças de extrema importância para essas aves como *Salmonella* spp. e *E. coli*. (LENCHENKO et al, 2019; NOLAN et al, 2013). Ademais, um aumento na sua prevalência pode estar relacionado com diminuição no ganho de peso (DI MARCANTONIO et al, 2022; ZHANG et al, 2022) e no aumento da colonização do TGI por *Campylobacter* spp (ZHANG et al, 2022).

Em relação ao filo com menor número de representantes isolados no presente trabalho, Actinobacteria também apresentou menor prevalência em outros trabalhos (ROTHROCK JR et al, 2021; VIDENSKA et al, 2014) que os filos mencionados anteriormente.

O gráfico 3 traz a prevalência dos gêneros/espécies de uma maneira geral e por sítio. Quando analisamos a diversidade por gênero/espécie, dos 301 isolados obtidos, 102 (33,9%) foram identificados como *Staphylococcus* coagulase negativa (ECN), sendo 48 oriundos de cloaca, 52 de traqueia e 2 de ambiente; 82 (27,2%) como *E. coli*, sendo 39 oriundos de cloaca, 36 de traqueia e 7 de ambiente; 53 (17,6%) como *Enterococcus* spp., sendo 36 oriundos de cloaca, 11 de traqueia e 6 de ambiente; 27 (9%) como *Proteus mirabilis*, sendo 25 oriundos de cloaca e 2 de ambiente; 10 (3,3%) como *Bordetella hinzii*, sendo todas oriundas de traqueia; 8 (2,7%) como *Streptococcus* spp., sendo todos oriundos de traqueia; 7 (2,3%) como *Ligilactobacillus salivarius*, sendo 6 oriundos de cloaca e 1 de traqueia; 6 (2%) como *Corynebacterium* spp., sendo 5 oriundos de cloaca e 1 de traqueia; 4 (1,3%) como *Lactobacillus johnsonii*, sendo 3 oriundos de cloaca e 1 de ambiente; 1 (0,3%) como *Salmonella* spp., sendo

esse oriundo de traqueia e 1 (0,3%) como *Aerococcus viridans*, sendo esse oriundo de cloaca. As espécies de ECN encontram-se na tabela suplementar contida no anexo II.

Em relação à microbiota intestinal dos animais, resultados semelhantes foram obtidos em um estudo realizado na Índia, por Boovaragamoorthy e colaboradores (2019), em que foi observado que espécies de *Staphylococcus* foram as mais isoladas, representando 31% do total de isolados obtidos e *E. coli* foi o microrganismo com segunda maior prevalência, representando 17% desses. Ademais, *Enterococcus* spp. também esteve presente entre as bactérias mais isoladas, representando 3% do total de isolados, sendo o terceiro microrganismo de maior prevalência.

Gráfico 1 – Prevalência dos isolados por sítio.

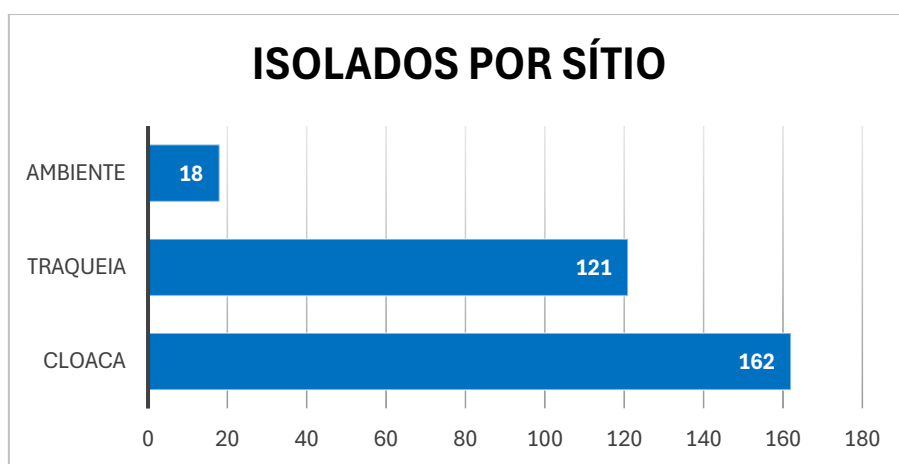
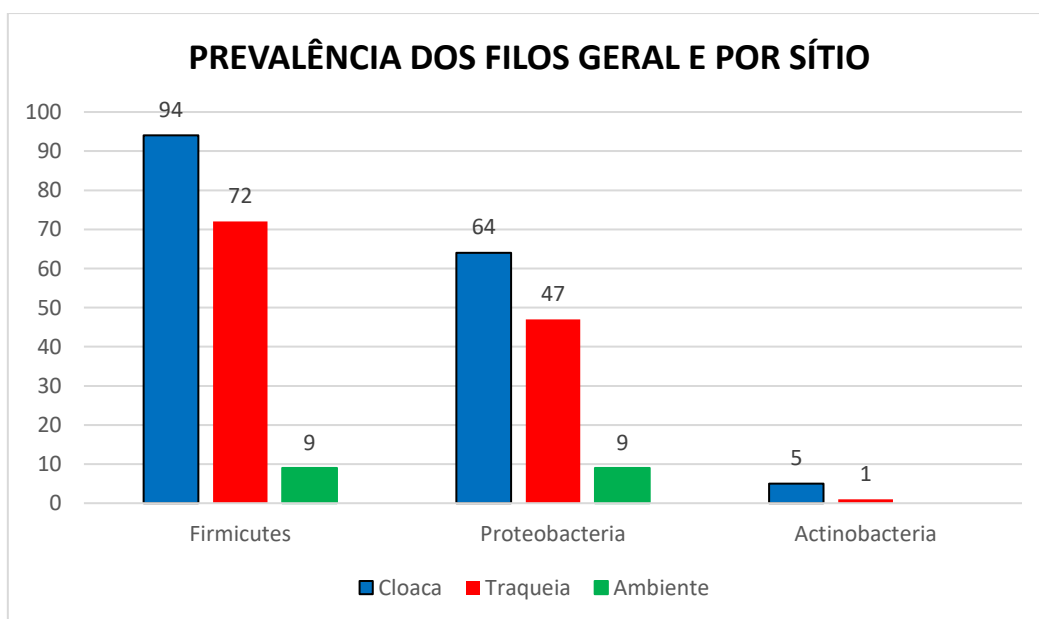


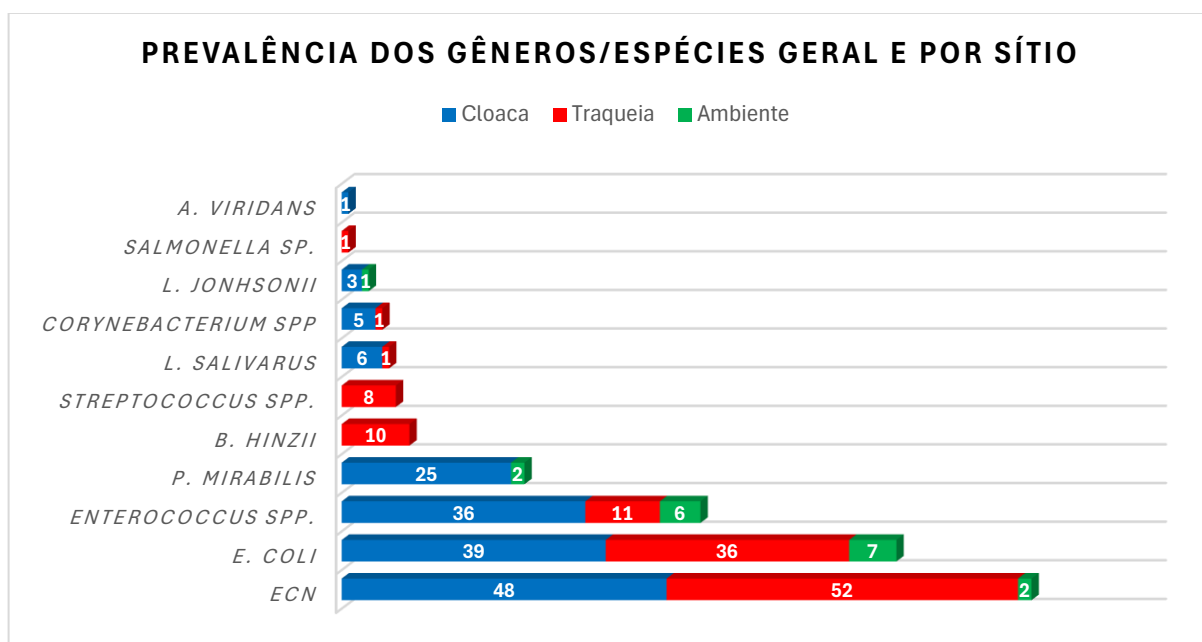
Gráfico 2 – prevalência dos filos geral e por sítio.



Sobre a microbiota do trato respiratório dessas aves, *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp e *Enterococcus* spp estão entre os principais gêneros que colonizam a traqueia (ZHOU et al, 2021). No presente estudo foram obtidos resultados que conferem com essa informação, visto que os três gêneros citados anteriormente estão entre os principais microrganismos isolados das amostras de traqueia. Vale destacar um estudo que mostrou que a composição do lavado broncoalveolar de aves comerciais é semelhante à encontrada na traqueia (WANG et al, 2020).

Em se tratando da microbiota do ambiente em que as aves vivem, essa é proporcional à microbiota de amostras biológicas obtidas das mesmas por conta das interações constantes (RYCHLIK; KARASOVA; CRHANNOVA, 2024), o que se reflete no presente estudo, já que os microrganismos isolados das amostras biológicas são de mesmos gêneros/espécies dos isolados das amostras de cama.

Gráfico 3 – prevalência dos gêneros/espécies geral e por sítio.



Como humanos e animais são colonizados por bactérias de diferentes ambientes, inclusive por aquelas que originam efeitos negativos (RYCHLIK; KARASOVA; CRHANNOVA, 2024), entender quais gêneros/espécies estão presentes em ambientes de produção avícola torna-se de extrema importância para a Saúde Única, uma vez que muitas dessas bactérias são conhecidas por causarem “enfermidades ocupacionais”.

Falando sobre esses microrganismos, sabe-se que bactérias Gram-positivas são predominantes em ambientes de criação de aves (GAO et al, 2017). Como observado nos resultados, *Staphylococcus* spp. foi o gênero com maior número de isolados tanto no geral, quanto quando isolados de cloaca e traqueia. Esses resultados vão de acordo com o estudo já mencionado de Boovaragamoorthy e colaboradores (2019), que observaram uma maior prevalência de *Staphylococcus* spp. em isolados de cama aviária. Além disso, em dois estudos conduzidos por Osman e colaboradores (2015; 2016), foram observadas altas prevalências de *Staphylococcus* spp. em amostras de carne de frango (100% e 50%), ratificando a alta prevalência desse microrganismo na produção avícola. Como já mencionado, *Staphylococcus* spp. está entre os principais gêneros que colonizam a traqueia, sendo as principais espécies ECN (PIMENTA, 2018; ZHOU et al, 2021), dado que vai de encontro aos resultados do presente estudo.

Infecções estafilocócicas representam um problema de bem-estar e econômico global na produção avícola, por conta do desenvolvimento de claudicações nos animais, trazendo consequências, como dor, problemas de locomoção, diminuição nos parâmetros produtivos, aumento da mortalidade, entre outras (SZAFRANIEC; SZELESZCZUK; DOLKA, 2020), além de serem um dos principais agentes infecciosos do trato respiratório das aves (YEHIA et al, 2023). Por serem frequentes no ambiente de produção, *Staphylococcus* spp. representam risco de doenças para os trabalhadores desse setor agrícola (RYCHLIK; KARASOVA; CRHANOVA, 2024), sendo *Staphylococcus* coagulase-positiva (ECP) responsáveis por altas taxas de infecções dermatológicas (RAVENHOLT et al, 1961; ROSKEY & HAMDY, 1972) além de serem importantes agentes causadores de toxinfecções alimentares (OSMAN et al, 2015). *Staphylococcus* spp. também são considerados de preocupação mundial em relação à resistência antimicrobiana, (UHLEMANN et al, 2014), uma vez que a espécie *S. aureus* foi classificada como agente de prioridade alta pela OMS (2017), o que mostra sua importância como agente ocupacional e na Saúde Única.

Outro microrganismo Gram-positivo pertencente ao filo Firmicutes é *Enterococcus* spp., que foi o terceiro microrganismo com maior prevalência no presente estudo, assim como no estudo de Boovaragamoorthy e colaboradores (2019). Outros estudos também observaram elevada prevalência de *Enterococcus* spp. em ambientes de produção avícola, seja de swabs cloacais (NOENCHAT et al, 2022), fezes (LIU et al, 2013), ração (YAMAGAMI et al, 2024) e órgãos (STEPIEŃ-PYŚNIAK et al, 2016).

Enterococcus spp. é um gênero de bactérias ubíquas, comuns do ambiente (SOUILLARD et al, 2022), sendo parte da microbiota comum de animais e humanos (STEPIEŃ-PYŚNIAK et al, 2016), incluindo as aves. Porém esses microrganismos são agentes oportunistas que podem causar doenças em humanos e animais. Em aves comerciais, *Enterococcus* spp. estão associados a doenças do aparelho locomotor (STEPIEŃ-PYŚNIAK et al, 2016), porém também podem ser agentes causadores de onfalite em pintos, lesões de pele, endocardite, amiloidose, septicemia e necroses cerebrais (SOUILLARD et al, 2022; STEPIEŃ-PYŚNIAK et al, 2016). Em relação à sua importância na Saúde Única, em humanos, esses microrganismos podem causar enfermidades como endocardite, infecções do trato urinário (ITU) ou septicemias, que podem ser fatais (SOUILLARD et al, 2022). *Enterococcus* spp. também é o terceiro principal agente em casos de doenças nosocomiais (POULSEN et al, 2012). Reforçando essa importância em Saúde Única e como microrganismo causador de infecções ocupacionais, no estudo realizado por Poulsen e colaboradores (2012), 7 (23%) das 31 cepas de *Enterococcus* spp. causadoras de ITU em pacientes humanos demonstraram tipagens sequenciais e padrões eletroforéticos indistinguíveis ou muito parecidos com os oriundos de aves comerciais, possuindo até mesmo susceptibilidade antimicrobiana semelhante. Dessas 7 cepas, 5 eram oriundas de indivíduos que trabalharam em estabelecimentos de produção avícola.

Além de causarem infecções em animais e humanos, esses microrganismos também representam um problema em Saúde Única pela sua importância em relação à resistência antimicrobiana, já que a OMS (2017) classificou a espécie *E. faecium* resistentes à vancomicina como de prioridade alta nessa questão.

Outro microrganismo de importância para a Saúde Única é *Streptococcus* spp.. No presente estudo, esse agente foi observado somente em amostras de traqueia, resultado que vai de encontro com a literatura, já que *Streptococcus* spp. são constituintes naturais da microbiota traqueal (RYCHLIK; KARASOVA; CRHANNOVA, 2024). Esse gênero possui espécies de importância clínica na avicultura, causadoras de celulite (VAILLANCOURT et al, 1992), septicemia e endocardite em frangos de corte (CHADFIELD et al, 2004). Em humanos, foram reportadas cepas de *S. suis* causadoras de infecções que também estavam presentes em suínos saudáveis (KERDSIN et al, 2023), mostrando a importância da produção animal em infecções causadas por esse agente em humanos e a importância desse microrganismo na Saúde Única, que também se dá devido à resistência antimicrobiana, já que *S. pneumoniae* foi classificado pela OMS (2017) como agente de prioridade média, podendo *Streptococcus* spp. apresentar

resistência a antimicrobianos comuns, como macrolídeos e tetraciclina (GLAJZNER, SZEWCZYK & SZEMRAJ, 2021).

E. coli é uma das principais bactérias de importância em sanidade avícola por conta de cepas APEC, que podem causar infecções denominadas colibacilose (KHALID et al, 2022), possuiu uma elevada prevalência no presente estudo e no estudo de Boovaragamoorthy e colaboradores (2019). Além de sua alta prevalência em animais vivos, essa também se mostrou elevada em estudos realizados em carcaças (ELTAI et al, 2020; PIRES et al, 2020), inclusive oriundas de abatedouros nacionais (CARDOSO et al, 2006; CERUTTI et al, 2019). Esse microrganismo pode ser transmitido para o ser humano e colonizar o seu intestino, podendo causar doenças em trato urinário, meningites, peritonites e septicemias (ELTAI et al, 2020), além de, por ser um agente representante da família *Enterobacteriaceae*, (ROCK & DONNENBERG, 2014), serem considerados de prioridade crítica pela OMS (2017), caso sejam resistentes a carbapenênicos e produtoras de betalactamases de espectro estendido (ESBL), mostrando a importância desse agente em Saúde Única.

Microrganismo ubíquo e de grande importância na avicultura (LI et al, 2022), *Proteus* spp. apresentou uma prevalência considerável no presente trabalho, o que corrobora com outros trabalhos realizados em ambientes de produção avícola encontrados na literatura (ISLAM et al, 2020; LI et al, 2022). Esse gênero bacteriano possui importância em Saúde Única, pois pode causar diversas infecções em humanos como em ferimentos, oculares, gastrintestinais, no trato urinário (SANCHES et al, 2020) e respiratórias (SUN et al, 2020), além de infecções decorrentes da ingestão de carne de frango (WANG; ZHANG; NIU, 2021). Aliado à possibilidade de causar infecções em humanos, *Proteus* spp. possui importância em Saúde Única pois, por ser integrante da família *Enterobacteriaceae*, quando resistente à carbapenênicos e produtores de betalactamases de espectro estendido, é considerado de prioridade crítica pela OMS (2017)

Outra bactéria de grande importância na produção avícola é *Salmonella* sp., por conta da enfermidade causada por esse agente, denominada salmonelose. Esse gênero bacteriano apresentou baixa prevalência no presente estudo, sendo obtido somente 1 (0,3%) isolado oriundo de traqueia. Esse resultado vai de encontro com outros presentes na literatura, onde sua baixa prevalência foi relatada em animais vivos (DAGNEW et al, 2020), cama (DUNN et al, 2022), amostras de carne (PIRES et al, 2020), ração (DAGNEW et al, 2020), ambientes de abatedouros (ZEN et al, 2021), inclusive em estudos realizados no Brasil (ALCÂNTARA et al, 2022; MACIEL et al, 2016; MEZALIRA et al, 2014) e, mais especificamente, no Rio de Janeiro (BAPTISTA et al, 2018). Em alguns estudos, é relatada a alta prevalência desse microrganismo,

seja em amostras de cama (GUTIERREZ; DE; SCHNEIDER, 2020), carne de frango (LIU et al, 2022), inclusive em países da América do Sul, como na Colômbia (RODRIGUES; RONDON; VERJAN, 2015).

Salmonella spp. é um agente de importância em Saúde Única, pois é um dos principais microrganismos responsáveis por infecções alimentares no mundo (BAHRAMIANFARD et al, 2021), sendo causa mais frequente dessas doenças e mortes devido a suas complicações na União Europeia (ZENG et al, 2021). No Brasil, esse agente foi apontado como o principal envolvido nos surtos de doenças alimentares entre 2007 e 2016 (BAPTISTA et al, 2018). Produtos de origem animal, principalmente carne são os principais veículos desse agente (LIU et al, 2022), porém o contato direto com animais infectados também pode servir como uma fonte de infecção dessa bactéria (FOLEY, LYNNE & NAYAK, 2008), mostrando que esse patógeno pode causar infecções ocupacionais.

Outro fator que torna esse gênero de grande importância em Saúde Única, é a resistência antimicrobiana, já que *Salmonella* spp. fazem parte da família *Enterobacteriaceae*, podendo ser classificados como de prioridade crítica ou alta, caso sejam resistentes às fluoroquinolonas (OMS, 2017). Uma iniciativa tomada pelo MAPA foi a criação da IN 70/2003 que instituiu o Programa de Redução de Patógenos (PRP). Esse programa implementou análises contínuas e sistemáticas de carcaças de frangos e perus frescos, testando-as para *Salmonella* spp. (LIMA et al, 2018). A IN20/2016, estabeleceu o controle e monitoramento desse agente nos estabelecimentos comerciais e de abate de aves de corte registrados no Serviço de Inspeção Federal (SIF) (BRASIL, 2016), unindo as ações nesses subsectores. Mais recentemente, foi instituída a IN60/2019, que visa complementar a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) 331 de 2019 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), estabelecendo as listas de padrões microbiológicos para alimentos prontos para oferta ao consumidor. Segundo essa IN, para carne de aves, a quantidade de unidades formadoras de colônias (UFC) de *Salmonella* spp. para cada 25 gramas de carne deve ser no máximo 5, com exceção para os produtos cárneos cozidos inteiros ou em cortes. Nesse caso, a quantidade de UFC máxima para cada 25 gramas de carne é de 10 (BRASIL, 2019).

Importante ressaltar que *Bordetella* spp., apesar de representar um gênero comum do trato respiratório inferior, mas não do superior (RYCHLIK; KARASOVA; CRHANNOVA, 2024), foi observada, no presente estudo, com uma prevalência relevante em isolados de traqueia, sendo obtidos 10 dos 120 isolados totais (8,3%), todos eles oriundos deste sítio. Quando falamos especificamente de *B. hinzii*, única espécie isolada no presente estudo, ainda

que esse microrganismo seja descrito como comensal de aves (FABRE et al, 2015), Register et al. (2003; 2009) obtiveram isolados associados a lesões traqueais em perus. Ademais, há casos de infecções ocupacionais em humanos causadas por essa bactéria, como os reportados por Fabre e colaboradores (2015), além de Endocardite (GONZÁLES et al, 2019); infecções em pacientes imunocomprometidos, como por exemplo, infectados pelo SARS-CoV-2 (MAISON-FORMOTAR; SIVASUBRAMANIAN, 2021); e infecções fatais do trato digestório em paciente imunocompetente (YARFITZ et al, 2000) foram outros relatos de infecções causadas por essa espécie bacteriana. *Bordetella* spp. também podem apresentar resistência a uma série de antimicrobianos (LOONG et al, 2016; RUIZ, MARTINE & calleja, 2013) mostrando sua importância na Saúde Única.

Integrante do filo Actinobacteria, *Corynebacterium* spp. foi observado em baixa prevalência no presente estudo, o que vai de encontro a outros estudos realizados em ambientes de produção avícola (LIANG et al, 2013; OUESLATI et al, 2022). Sua importância em avicultura se dá por poder causar lesões supurativas nos animais (ENURAH et al, 2016), além de estarem relacionados à predisposição a alergias e asma (DAI et al, 2017), consistindo em um microrganismo de interesse em Saúde Única.

L. salivarius é um bastonete Gram-positivo comumente isolado do intestino ou das fezes de aves e mamíferos (DEC et al, 2021), que exerce funções probióticas, sendo amplamente utilizado na alimentação de animais e humanos (YANG et al, 2023) por ter o *status* de presunção de qualificada de segurança pela Autoridade de Segurança Alimentar Europeia (EFSA), sendo considerado seguro para uso (EFSA, et al 2019). Dentre essas funções, esse microrganismo pode atuar como promotor de crescimento, auxiliando no ganho de peso (YANG et al, 2023), assim como prevenir infecções contra agentes infecciosos (DEC et al, 2021), além de inibir agentes patogênicos como *Salmonella* spp. (ZHANG; MA; DOYLE, 2007), o que mostra sua importância na avicultura como agente probiótico.

Outro agente de interesse em avicultura por sua função probiótica é *L. johnsonii* (JOHNSON et al, 2023). No presente estudo essa espécie apresentou baixa prevalência, porém *Lactobacillus* spp. é comumente relatado em diversos trabalhos (YIN et al, 2023; YANG et al, 2022; ZHANG et al, 2022), inclusive *L. johnsonii* (RYCHLIK, KARASOVA; CHRANOVA, 2023). Em aves, já fora descrita a importante função de competição contra patógenos, principalmente *Clostridium perfringens* (GERVASI et al, 2014; WEGMANN et al, 2009). Em humanos, a atividade probiótica de *Lactobacillus* spp. também já fora reportada em diversas

pesquisas (HEENEY; GAREAU; MARCO, 2018; SELLE; KLAENHAMMER, 2013; SLATTERY; COTTER; O'TOOLE, 2019).

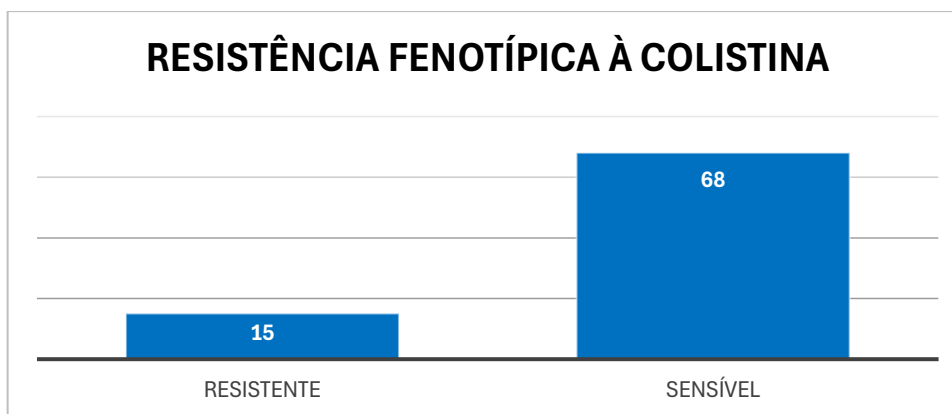
Assim como *Salmonella* spp., *A. viridans*, microrganismo amplamente distribuído em ambientes marinhos (EZECHUKWU; SINGAL; IGBNOSA, 2019), foi representado somente por um isolado no presente trabalho. Em frangos, já foi sugerido que a diminuição de algumas espécies colonizadores, incluindo *A. viridans* está relacionada com o desenvolvimento de enterite necrótica causada por *C. perfringens* (YANG et al, 2021). Em humanos, já foram relatadas diversas infecções causadas por esse microrganismo como ITU (EZECHUKWU; SINGAL; IGBNOSA, 2019), vasculite cutânea (PARREY et al, 2016) e até infecções cardiovasculares (YADAV et al, 2017), alertando para sua importância em Saúde Única.

5.2 Detecção da Resistência Fenogenotípica a Colistina

A resistência antimicrobiana é um assunto de preocupação global, que ameaça a saúde humana, animal e ambiental, foi descrita recentemente pela Organização de Alimentos e Agricultura (FAO) das Nações Unidas como assunto extremamente essencial à Saúde Única. Um dos antimicrobianos amplamente utilizados como aditivo zootécnico é a colistina, classificado pela OMS como antimicrobiano de mais alta prioridade entre aqueles de importância crítica para a medicina humana (RHOUMA; MADEC; LAXMINARAYAN, 2023). Com isso, dos 301 isolados totais, 110 representaram enterobactérias que foram testadas a fim de observar o perfil de resistência fenotípica à colistina e a presença de genes da família *mcr*. Vale observar que, por *Proteus* spp. serem intrinsecamente resistentes à colistina (MOFFATT; HARPER; BOYCE, 2019), cepas oriundas desse gênero não foram submetidas a testes para a avaliação da resistência fenotípica a esse antimicrobiano, sendo somente realizada a detecção dos genes da família *mcr*, logo 83 cepas foram submetidas à avaliação da resistência fenotípica.

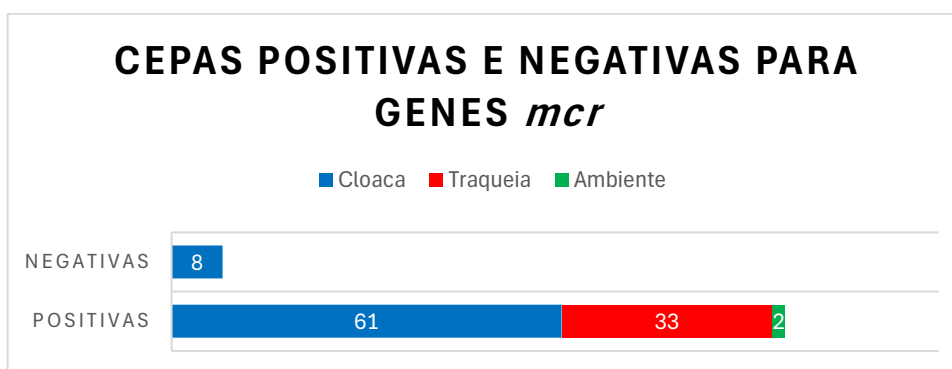
Após a realização da técnica do Ágar Screen, dos 83 isolados, foram observadas 15 cepas (18,1%) apresentando resistência fenotípica à colistina e 68 (81,9%) apresentando sensibilidade ao antimicrobiano. O gráfico 4, traz os resultados da avaliação fenotípica da resistência à colistina.

Gráfico 4 – prevalência da resistência fenotípica à colistina.



Realizada a avaliação do perfil de resistência à colistina, todas as 110 cepas de enterobactérias foram submetidas à técnica da PCR para a detecção de genes da família *mcr*. Após a avaliação dos resultados, foi observado que no total 102 de 110 (92,7%) cepas foram positivas para genes da família *mcr* e apenas 8 de 102 (7,3%) foram negativas. Das cepas que foram positivas, 61 das 102 (59,8%) eram de amostras oriundas de colaca, 33 das 102 (32,4%) de traqueia e 8 das 102 (7,8%) da cama. Corroborando com os dados do presente estudo, diversos trabalhos também relataram a presença de genes *mcr* em ambientes de produção avícola seja em animais vivos (ZHANG et al, 2018; ZHANG et al, 2019), carcaças (ADIGUZEL et al, 2021), fontes de água (PALUPI et al, 2019) e ração (WANG et al, 2018), mostrando a grande capacidade de disseminação dos genes dessa família. O gráfico 5 ilustra a prevalência das cepas positivas e negativas para genes da família *mcr*.

Gráfico 5 – prevalência de cepas positivas e negativas para genes *mcr*.



O gráfico 6 traz os resultados de prevalência dos genes *mcr*. Analisando essa prevalência, dos 110 isolados testados, foram detectados ao todo 269 genes, sendo 48 (17,8%)

mcr-1, 42 (15,6%) *mcr-2*, 27 (10%) *mcr-3*, 61 (22,7%) *mcr-4*, 7 (2,6%) *mcr-5*, 40 (14,9%) *mcr-6*, 1 (0,4%) *mcr-7*, 4 (1,5%) *mcr-8* e 39 (14,5%) *mcr-9*.

Quando se analisa a prevalência de cada gene *mcr* em relação às 102 cepas que foram positivas, 48 (47,1%) foram positivas para *mcr-1*, 42 (41,2%) para *mcr-2*, 27 (26,5%) para *mcr-3*, 61 (50%) para *mcr-4*, 7 (6,7%) para *mcr-5*, 40 (39,2%) para *mcr-6*, 1 (1%) para *mcr-7*, 4 (3,9%) para *mcr-8* e 39 (38,2%) foram positivas para *mcr-9*. O gráfico7 ilustra essa prevalência em relação às cepas.

Como relatado na literatura, os principais genes *mcr* detectado pelo mundo são *mcr-1*, 3 e 9 (AL-MIR et al, 2021; BITAR et al, 2020). Apesar de ter sido observada uma alta prevalência destes genes no presente estudo, *mcr-4* foi o gene em que foi observada a maior prevalência. Além dessa maior detecção de *mcr-4*, *mcr-2* e 6 também apresentaram alta taxa de prevalência, sugerindo uma mudança na distribuição destes genes quando comparada com a literatura (BARBIERI et al, 2021).

Gráfico 6 – prevalência total de genes *mcr*.

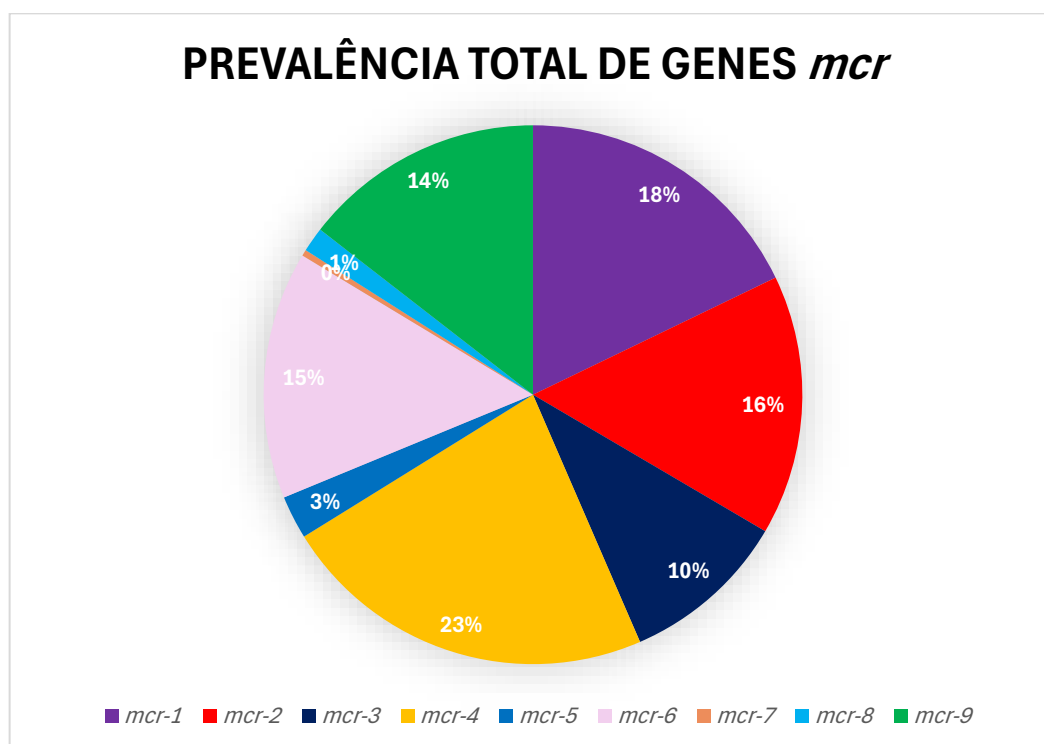
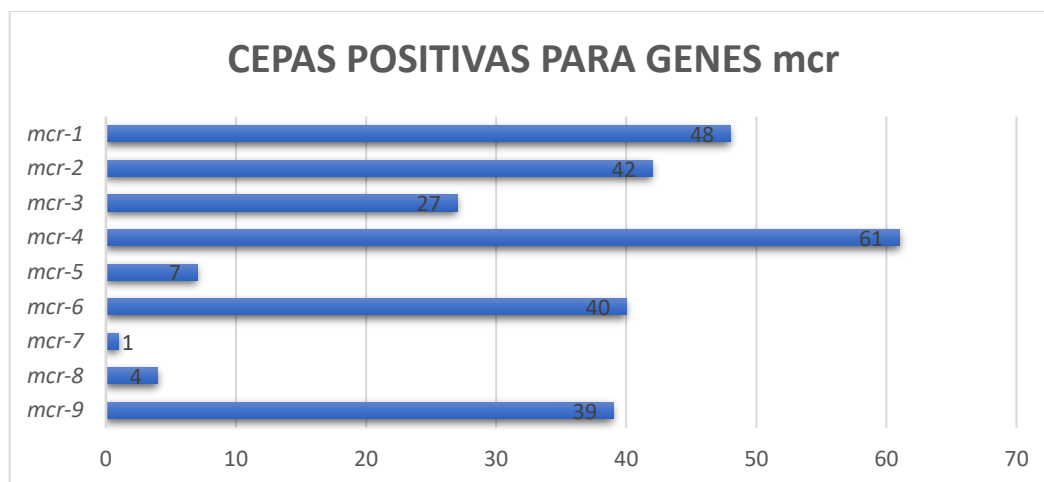


Gráfico 7 – porcentagem de cepas positivas para genes *mcr*.



Como já mencionado no presente estudo, *mcr-1* foi descrito pela primeira vez em 2015, por Liu e colaboradores (2015) e é o principal gene da família *mcr* detectado em amostras oriundas da produção avícola (AL-MIR et al, 2021). Essa informação vai de acordo com os resultados obtidos no presente estudo, onde foi observada uma alta prevalência desse gene. Outros estudos mostram a elevada prevalência desse gene em amostras oriundas de aves de produção (ZHANG et al, 2018; ZHANG et al, 2019). Esse gene ~~já também~~ já foi descrito em outros sítios da produção como ração (WANG et al, 2018), fontes de água (PALUPI et al, 2019) e carcaças (ADIGUZEL et al, 2021). *mcr-1* também já foi descrito, com altas prevalências, em amostras oriundas de outras espécies animais, como suínos (TONG et al, 2018; ZHANG et al, 2019), bovinos (HAENNI et al, 2016), caninos (LEI et al, 2017; WANG et al, 2021) felinos (HAMAME et al, 2022), guaxinins e em viveiro de jacaré (DOS SANTOS et al, 2020). Em humanos, *mcr-1* já foi detectado em trabalhadores da cadeia de produção de aves (WANG et al, 2017; NGUYEN et al, 2022), vendedores desses animais (WANG et al, 2021) e até de pacientes hospitalizados (AL-MIR et al, 2019), mostrando o grande potencial de disseminação desse gene e seu importante papel na Saúde Única.

O gene *mcr-2* foi descrito pela primeira vez na Bélgica (XAVIER et al, 2016). Na produção avícola, sua alta prevalência já foi observada (ZHANG et al, 2019), assim como no presente estudo. Essa elevada prevalência de *mcr-2* também já foi descrita em outras espécies animais, como caninos (WANG et al, 2021), suínos (ZHANG et al, 2018) e bovinos (ZHANG et al, 2019). Esse gene também já foi descrito em humanos a partir de amostras fecais (PHUADRAKSA et al, 2022), mostrando seu potencial de disseminação e papel na Saúde Única.

Detectado a primeira vez por Yin e colaboradores (2017), o gene *mcr-3*, juntamente com *mcr-1* e *mcr-9* são os genes da família *mcr* mais detectados no mundo (AL-MIR et al, 2021; BITAR et al, 2020), tendo apresentado uma elevada prevalência no presente estudo. Esta informação se confirma, pois, sua prevalência também se mostrou elevada no trabalho de Jalal e colaboradores (2020). Além de ser descrito na produção avícola, *mcr-3* já foi observado em bovinos (HERNÁNDEZ et al, 2017; JALAL et al, 2020), caninos (NITTAYASUT et al, 2021) e suínos (WANG et al, 2019; ZHANG et al, 2018), além de também já ter sido descrito em viveiro de arara-azul (DOS SANTOS et al, 2020). Em humanos, esse gene já foi detectado de amostras fecais de indivíduos saudáveis (PHUADRAKSA et al, 2022). Isso mostra o grande potencial de disseminação desse gene, além de sua importância em Saúde Única.

Primeiramente descrito em 2017, na Itália, a partir de um isolado de *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium oriundo de conteúdo cecal de suíno (CARATTOLI et al, 2017), *mcr-4* foi o gene da família *mcr* com maior prevalência no presente estudo. Outros estudos também demonstram essa elevada prevalência na produção de aves (CHEN et al, 2018; RAMATLA et al, 2022). Em amostras oriundas de outras espécies animais como de ratos presentes em ambientes de produção avícola (RAMATLA et al, 2018), suínos (AGUIRRE et al, 2020; CHEN et al, 2018) e caninos (WANG et al, 2021), também já houve a descrição de *mcr-4*. Esse gene também já foi detectado das fezes de humanos (SUN et al, 2019) e em indivíduo apresentando quadro de meningite (MARTINS-SORENSEN et al, 2020), mostrando a importância de *mcr-4* na Saúde Única.

O gene *mcr-5*, descrito pela primeira vez na Alemanha, no ano de 2017 (BOROWIAK et al, 2017), apresentou uma baixa prevalência no presente estudo, assim como em outros trabalhos realizados em ambientes de produção de aves (CHEN et al, 2018; NGBEDE et al, 2020). Esse gene já foi reportado em aves vivas (CHEN et al, 2018), carcaças (KARIM et al, 2023) e ração (LEMLEM et al, 2023). Ademais, em suínos (AGUIRRE et al, 2020; MA et al, 2018), caninos (WANG et al, 2021) e bovinos (TIMMERMANS et al, 2021) já houve relatos da presença de *mcr-5*. Em humanos, esse gene já foi descrito de *swabs* vaginais (ZHANG et al, 2018). *mcr-5* também já foi detectado em águas residuais de hospitais (XU et al, 2021) e de poço (CHERAK et al, 2021), o que mostra sua capacidade disseminativa e papel na Saúde Única.

Em junho de 2017, na Grã-Bretanha, *mcr-6* foi descrito pela primeira vez (ABUOUN et al, 2017). Sua prevalência no presente estudo se mostrou elevada, o que corrobora com a

literatura (LEMLEM et al, 2023). Em outras espécies animais, *mcr-6* já foi descrito em amostras de suínos (ABUOUM et al, 2017).

Descrito pela primeira vez também em 2017 (YANG et al 2017), o gene *mcr-7* apresentou uma baixa prevalência no presente estudo, o que corrobora com a literatura, não sendo encontrados estudos relatando sua detecção em ambientes de produção de aves. Porém, sua detecção já fora relatada em amostras oriundas de suínos, mesmo que também em baixa prevalência (PHETBUROM et al, 2021). Apesar da baixa prevalência, esse gene já foi descrito na água de viveiro de jacarés (DOS SANTOS et al, 2020) e de clubes de recreação (FURLAN et al, 2022), mostrando seu potencial de disseminação entre diferentes ambientes.

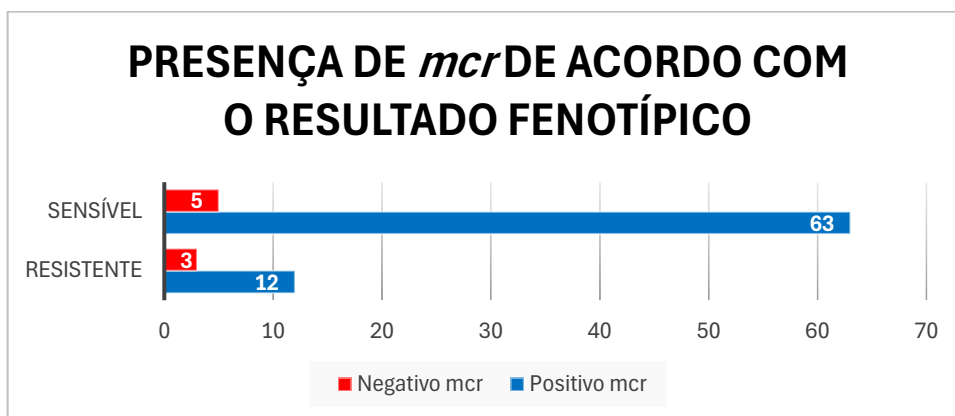
No presente trabalho, o gene *mcr-8*, reportado pela primeira vez em 2018 (WANG et al, 2018), não apresentou prevalência elevada, resultado que vai de encontro com Yang e colaboradores (2022), que obtiveram somente 1 cepa contendo *mcr-8* em seu genoma das 66 amostras de fezes de aves testadas. Apesar da baixa prevalência desse gene, *mcr-8* já foi reportado em caninos (ZHANG et al, 2021) e suínos (PHETBUROM et al, 2021). Em humanos, já foi detectado de fezes de cuidadores de aves (YANG et al, 2022) e de paciente pediátrico em sepse (LIU et al, 2023), mostrando seu potencial disseminatório e sua importância na Saúde Única.

O gene *mcr-9* foi descrito pela primeira vez em 2019, nos EUA, apresentou uma elevada prevalência no presente estudo, o que vai de acordo com a literatura, onde se reporta que *mcr-9*, juntamente com *mcr-1*, é o de maior disseminação ao redor do mundo (BITAR et al, 2020), apesar de não gerar altos índices de resistência à colistina (ZHOU et al, 2022). Essa alta prevalência já foi observada no estudo de Zhou e colaboradores (2022), onde em 10,7% das cepas de *Enterobacter cloacae* continham *mcr-9* em seu genoma. Além da presença em amostras da produção avícola, como no presente estudo e no conduzido por Lemlem e colaboradores (2023), esse gene também já foi reportado em amostras de suínos (FUKUDA et al, 2022), bovinos (WANG et al, 2021), caninos e felinos (KHALIFA et al, 2020). Em humanos, já foi descrito em indivíduos saudáveis (JU et al, 2022) e hospitalizados (BITAR et al, 2020), mostrando a alta capacidade de disseminação desse gene e sua importância na Saúde Única.

O gráfico 8 traz a presença de genes *mcr* de acordo com os resultados obtidos no exame fenotípico. Como ilustrado, dos 15 isolados que apresentaram resistência à colistina, em 12 (80%) foram detectados genes da família *mcr* e em 3 (20%) não foram detectados genes dessa família. A presença da resistência à colistina, apesar da ausência de genes *mcr*, pode ser explicada pelo fato de existirem mecanismos cromossômicos que conferem resistência a esse

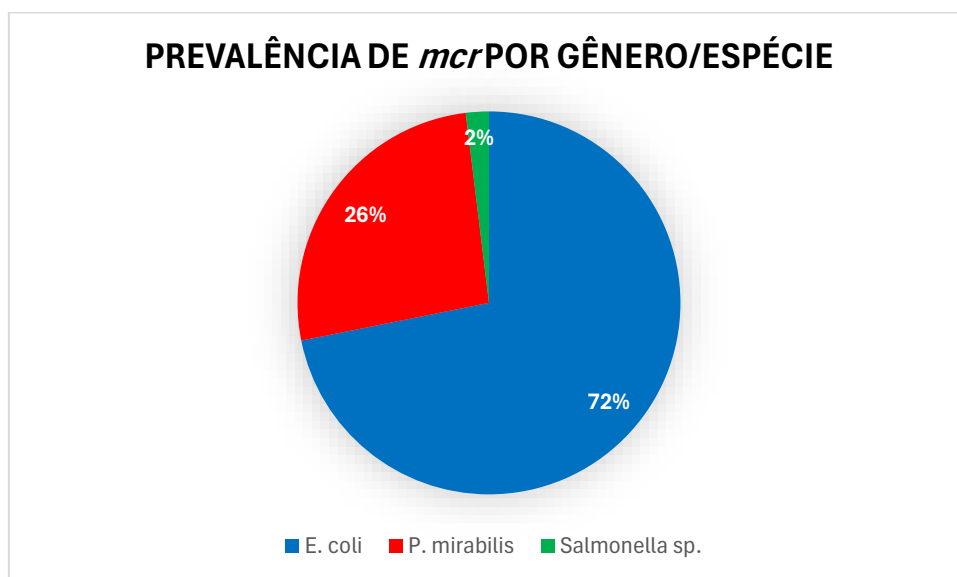
antimicrobiano (ANYANWU et al, 2023). Já das 68 cepas que apresentaram resultado negativo de resistência fenotípica à colistina, foram detectados genes da família *mcr* em 63 (94%) e, em 5 (6%) dessas cepas, não houve a detecção de genes dessa família. Outros estudos já observaram cepas sensíveis ao antimicrobiano em questão e que apresentavam genes da família *mcr* em seu material genético (BARBIERI et al, 2021; YANG et al, 2018), revelando que a resistência à colistina não é necessária para a presença desses genes.

Gráfico 8 – presença de genes *mcr* de acordo com o resultado fenotípico



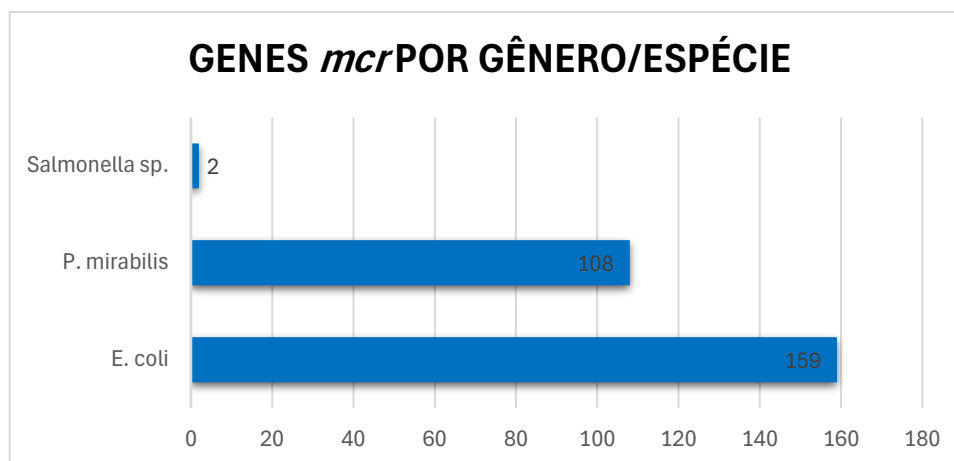
Analisando a presença de genes da família *mcr* por gênero/espécie, foram observados que 74 das 102 (72,5%) cepas analisadas eram *E. coli*, 27 das 102 (25,5%) eram *P. mirabilis* e 1 das 102 (1%) era *Salmonella* sp.. O gráfico 9 ilustra os resultados descritos acima.

Gráfico 9 – prevalência de genes *mcr* por gênero/espécie.



De acordo com o gráfico 10 é observado que *E. coli* apresentou a maior quantidade de genes da família *mcr* detectados, sendo detectados 159 dos 269 (59,1%) genes, enquanto 108 dos 269 (40,1%) foram detectados em *P. mirabilis* e 2 dos 269 (0,7%) em *Salmonella* sp..

Gráfico 10 – quantidade de genes *mcr* por gênero/espécie.



E. coli é a espécie bacteriana com a maior propensão de albergar genes *mcr* (ANYANWU et al, 2023), o que foi observado no presente estudo. Foram detectados nesta espécie 21 *mcr*-1, 16 *mcr*-2, 19 *mcr*-3, 42 *mcr*-4, 3 *mcr*-5, 39 *mcr*-6, 4 *mcr*-8 e 15 *mcr*-9. São diversos os relatos de detecção desses genes nessa espécie, não somente na produção avícola (CHEN et al, 2018; JALAL et al, 2020; ZHANG et al, 2018; ZHANG et al, 2019), mas também em outras espécies de animais de produção (TONG et al, 2018; WANG et al, 2019; ZHANG et al, 2018) e também em humanos (NGUYEN et al, 2022; PHUADRAKSA et al, 2022), mostrando seu importante papel como disseminador de genes *mcr* e no contexto da Saúde Única.

Apesar de *Proteus* spp. serem intrinsecamente resistentes à colistina (MOFFATT; HARPER; BOYCE, 2019), uma grande quantidade de genes *mcr* foi detectado no presente estudo, sendo 26 *mcr*-1, 25 *mcr*-2, 8 *mcr*-3, 19 *mcr*-4, 4 *mcr*-5, 1 *mcr*-6, 1 *mcr*-7 e 24 *mcr*-9. Não houve a detecção de *mcr*-8 nesse gênero bacteriano. A detecção de genes *mcr* já foi descrita em *Proteus* spp. (KASSEM et al, 2020), inclusive de amostras oriundas do ambiente de produção avícola (ISLAM et al, 2020) e humanos (JAVED et al, 2020), o que mostra a importância desses microrganismos na disseminação de genes da família *mcr* e seu papel na Saúde Única.

A disseminação de genes da família *mcr* em *Salmonella* spp. para humanos, animais e seus produtos é um assunto de saúde pública (WANG et al, 2023). No presente estudo, foi

observada apenas uma cepa desse agente em que foram detetados genes *mcr* (*mcr-1* e *mcr-2*). Já foram reportadas na produção avícola vários trabalhos em que foram detectados genes *mcr* de *Salmonella* spp. (CHIOU et al, 2019; EL GARCH et al, 2018; UDDIN et al, 2021). Na produção de suínos também foram reportados genes dessa família nesses agentes (LAY et al, 2021; RAU et al, 2020; WONGSRACHAI; PHUEKTES; JITTIMANNE, 2021). Em humanos, cepas desse agente carreando genes *mcr* também foram descritos (WANG et al, 2023), inclusive em pacientes apresentando diarreia (SUN et al, 2023), o que revela a a quão relevante é esse microrganismo para a Saúde Única.

Em 2016, foi publicada a Instrução Normativa nº45 (IN45/2016), que proíbe a comercialização e uso da colistina como aditivo zootécnico e só permite seu uso em caso de haver o antimicrobiano em estoque e dentro do prazo de validade como uma tentativa de diminuir os níveis de resistência ao antimicrobiano encontrados a campo (BRASIL, 2016). Segundo Anyanwu e colaboradores (2023), *E. coli* é o microrganismo com maior probabilidade de carrear *mcr-1*, que por sua vez é o gene da família *mcr* mais prevalente. Com isso, a fim de avaliar a eficácia dessa normativa, no que diz respeito à resistência à colistina e à presença de genes da família *mcr*, foi realizada uma comparação do presente estudo com outro realizado também no LABACVET-UFRRJ, que deu origem a uma tese de doutorado, conduzido por Pimenta (2018), que utilizou cepas isoladas de amostras coletadas antes da vigência da normativa. Seguindo o estabelecido por Anyanwu e colaboradores (2023) a comparação dos resultados obtidos nos dois trabalhos foi realizada utilizando as cepas de *E. coli* obtidas nos mesmos. O objetivo foi comparar os resultados de resistência fenotípica e de presença de *mcr-1* apresentados pelos estudos. Esses resultados estão ilustrados nos gráficos 11 e 12.

Gráfico 11 – comparação em relação à resistência fenotípica à colistina.

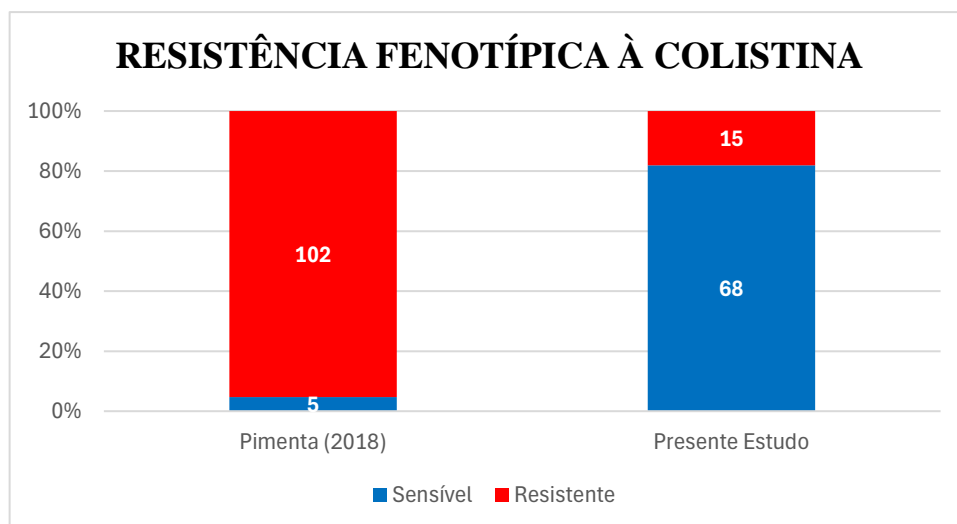
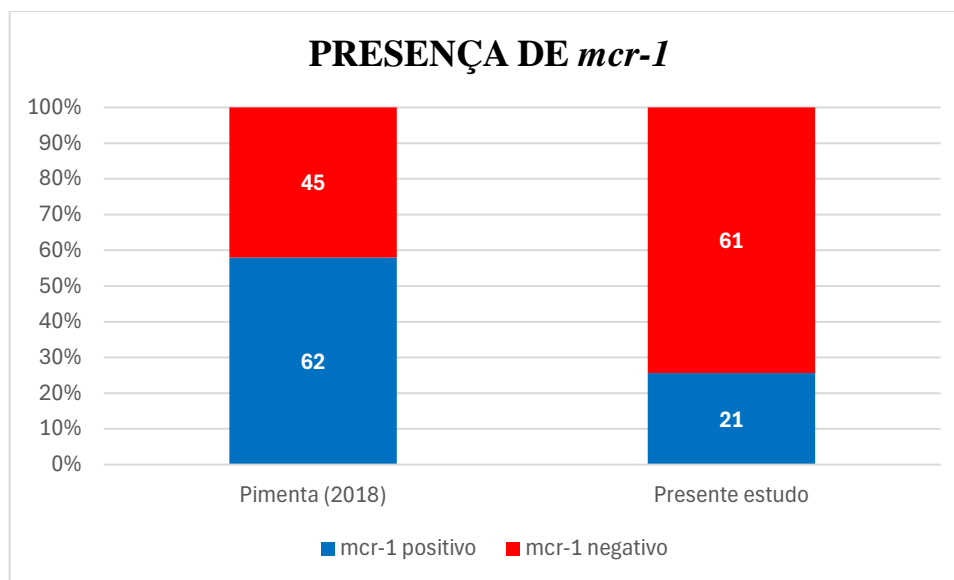


Gráfico 12 – comparação em relação à presença de *mcr-1*.



Quando comparamos os resultados de resistência fenotípica entre os dois estudos, observamos uma queda significativa em sua presença, já que no trabalho de Pimenta (2018) foi observado que 95,3%% (102/107) das cepas de *E. coli* apresentaram resistência ao antimicrobiano, enquanto no presente estudo 18,1% (15/83) das cepas foram resistentes. Essa queda também se mostrou presente quando comparamos a prevalência de *mcr-1* nessas cepas, pois no trabalho de Pimenta (2018) foi observada uma prevalência de 58% (62/107) desse gene, enquanto, no presente trabalho, essa prevalência foi de 25,6% (21/82). Foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os estudos para resistência fenotípica ($\chi^2(1) = 80.37$ $p < 0.001^{***}$) e para presença de *mcr-1* ($\chi^2(1) = 18.42$ $p < 0.001^{***}$).

Esses resultados corroboram com os obtidos em outros trabalhos de países como China (LIU et al, 2019; WANG et al, 2020; YANG et al, 2022) e Japão (MAKITA et al, 2020), em que foi observada essa mesma diminuição na prevalência de *mcr-1* após o banimento da colistina como aditivo zootécnico.

Importante observar que a diminuição na prevalência de *mcr-1* foi menor que a da taxa de resistência a colistina. A maior persistência de genes *mcr* em relação à resistência a colistina pode ser explicada pelo fato esses genes serem encontrados frequentemente em plasmídeos móveis, que facilitam a transferência horizontal de *mcr* (MIGURA-GARCÍA et al, 2020), além de *mcr-1* poder integrar-se ao cromossomo bacteriano, o que permite a sua persistência mesmo na ausência de plasmídeos móveis (SUN et al, 2018), explicando a persistência desses genes mesmo sem a pressão seletiva exercida pela colistina. Vale ressaltar que não foram encontrados

na literatura outros trabalhos que buscaram avaliar a eficácia da norma no Brasil, sendo esse o primeiro trabalho comparativo em relação à prevalência da resistência à colistina no país.

6. CONCLUSÕES

O principal filo bacteriano presente na produção de frangos de corte foi o Firmicutes, seguido por Proteobacteria. Esses filos são representados por bactérias de grande importância em Saúde Única, como *Staphylococcus* spp., *E. coli*, *Salmonella* spp. e *Enterococcus* spp.

A resistência fenotípica a colistina em cepas de enterobactérias oriundas da produção avícola foi elevada, visto que quase 20% das cepas testadas foram resistentes a esse antimicrobiano.

A resistência a colistina não está diretamente relacionada a presença ou ausência de genes da família *mcr*, porém estes representam indicadores importantes do potencial de emergência dessa resistência.

O banimento da colistina como aditivo zootécnico pela IN/45 tem se mostrado efetivo na redução da prevalência de *mcr-1* quando se comparam os dados do presente trabalho com os obtidos por Pimenta (2018).

Apesar da redução observada na detecção de *mcr-1* quando comparado aos estudos anteriores, os genes da família *mcr* foram detectados em níveis bem elevados, com destaque para a prevalência de *mcr-4*, o que ainda mostra um grande potencial de dispersão desses genes no ambiente de produção avícola.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABPA. **ABPA: Associação Brasileira de Proteína Animal, 2024. Estatísticas Setoriais.** Disponível em: <https://abpa-br.org/estatisticas-setoriais/>. Acesso em: 13 de mai. de 2024.
- ABUOUN, M. et al. *mcr-1* and *mcr-2* (*mcr-6.1*) variant genes identified in *Moraxella* species isolated from pigs in Great Britain from 2014 to 2015. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 72, n. 10, p. 2745-2749, 2017.
- ADIGUZEL, M. C. et al. Prevalence of colistin resistance in *Escherichia coli* in Eastern Turkey and genomic characterization of an *mcr-1* positive strain from retail chicken meat. **Microbial Drug Resistance**, v. 27, n. 3, p. 424-432, 2021.
- AGUIRRE, L. et al. Antimicrobial resistance profile and prevalence of extended-spectrum beta-lactamases (ESBL), AmpC beta-lactamases and colistin resistance (*mcr*) genes in *Escherichia coli* from swine between 1999 and 2018. **Porcine Health Management**, v. 6, n. 1, p. 8, 2020.
- AHMED, A. O. et al. Salmonellosis: Serotypes, prevalence and multi-drug resistant profiles of *Salmonella enterica* in selected poultry farms, Kwara State, North Central Nigeria. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v. 86, n. 1, p. 1-8, 2019.
- AHMED, S. R. Poultry Farm Procedure and Minimization of Poultry Waste through Urban Agriculture: A Case Study of Dey Poultry Farm. **Indian Journal of Pure and Applied Biosciences**, v. 9, n. 4, p. 61-76, 2021.
- AHMED, T. A. E. et al. Biotechnological applications of eggshell: recent advances. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 9, p. 675364, 2021.
- AL-MIR, H. et al. Emergence of clinical *mcr-1*-positive *Escherichia coli* in Lebanon. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 19, p. 83-84, 2019.
- AL-MIR, H. et al. WGS analysis of clonal and plasmidic epidemiology of colistin-resistance mediated by *mcr* genes in the poultry sector in Lebanon. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, mar, 2021.
- ALCÂNTARA, J. B. et al. *Salmonella enterica* diversity and antimicrobial resistance profile in broiler slaughterhouse by-products. **Veterinaria Italiana**, v. 58, n. 2, 2022.
- ALMATAWAH, Q. A. et al. Microbiological indoor and outdoor air quality in chicken fattening houses. **Journal of Environmental and Public Health**, v. 2023, n. 1, p. 3512328, 2023.

AMBREEN, G. et al. Efficacy of colistin in multidrug-resistant neonatal sepsis: experience from a tertiary care center in Karachi, Pakistan. **Archives of disease in childhood**, v. 105, n. 9, p. 830-836, 2020.

ANAND, S.; MANDE, S. S. Diet, microbiota and gut-lung connection. **Frontiers in microbiology**, v. 9, p. 2147, 2018.

ANYANWU, M. U. et al. Potential sources and characteristic occurrence of mobile colistin resistance (*mcr*) gene-harboured bacteria recovered from the poultry sector: a literature synthesis specific to high-income countries. **Peer Journals**, 2021.

ANYANWU, M. U. et al. Mobile colistin resistance (*mcr*) gene-containing organisms in poultry sector in low-and middle-income countries: Epidemiology, characteristics, and one health control strategies. **Antibiotics**, v. 12, n. 7, p. 1117, 2023.

APOSTOLAKOS, I.; PICCIRILLO, A. A review on the current situation and challenges of colistin resistance in poultry production. **Avian Pathology**, v. 47, n. 6, p. 546-558, 2018.

BABA, I. A. et al. Economics of Fermentation of Poultry Farm Waste. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 7, n. 6, p. 2108-2112, 2018.

BAHRAMIANFARD, H. et al. Prevalence, virulence factor and antimicrobial resistance analysis of *Salmonella* Enteritidis from poultry and egg samples in Iran. **BMC Veterinary Research**, v. 17, n. 1, p. 196, 2021.

BAPTISTA, D. Q. et al. Prevalência e susceptibilidade antimicrobiana de sorotipos de *Salmonella* spp. isolados de frangos vivos e carcaças no estado do Rio de Janeiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, p. 1278-1285, 2018.

BARACCO, G. J. Infections caused by group C and G Streptococcus (*Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* and others): epidemiological and clinical aspects. **Microbiology Spectrum**, v. 7, n. 2, p. 10.1128/microbiolspec.gpp3-0016-2018, 2019.

BARBIERI, N. L. et al. *Mcr-1* identified in fecal *Escherichia coli* and avian pathogenic *E. coli* (APEC) from Brazil. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 659613, 2021.

BARNETT, T. C. et al. Streptococcal toxins: role in pathogenesis and disease. **Cellular Microbiology**, v. 17, n. 12, p. 1721-1741, 2015.

BARRETT, M. A.; BOULEY, T. A. Need for enhanced environmental representation in the implementation of One Health. **EcoHealth**, v. 12, p. 212-219, 2015.

BINDARI, Y. R.; GERBER, P. F. Centennial Review: Factors affecting the chicken gastrointestinal microbial composition and their association with gut health and productive performance. **Poultry Science**, v. 101, n. 1, p. 101612, 2022.

BITAR, I. et al. Detection of five *mcr-9*-carrying Enterobacterales isolates in four Czech hospitals. **Msphere**, v. 5, n. 6, p. 10.1128/msphere. 01008-20, 2020.

BOGUCKA, J.; STADNICKA, K.. Quality of poultry meat-the practical issues and knowledge-based solutions. **Physical Sciences Reviews**, v. 8, n. 11, p. 4415-4433, 2023.

BOOVARAGAMOORTHY, G. M. et al. Clinically important microbial diversity and its antibiotic resistance pattern towards various drugs. **Journal of Infection and Public Health**, v. 12, n. 6, p. 783-788, 2019.

BORDA-MOLINA, D.; SEIFERT, J.; CAMARINHA-SILVA, A. Current perspectives of the chicken gastrointestinal tract and its microbiome. **Computational and Structural Biotechnology Journal**, v. 16, p. 131-139, 2018.

BORGES, K. A. et al. Detection and quantification of *Salmonella* spp. in poultry slaughterhouses of southern Brazil. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v. 13, n. 05, p. 455-460, 2019.

BOROWIAK, M. et al. Identification of a novel transposon-associated phosphoethanolamine transferase gene, *mcr-5*, conferring colistin resistance in d-tartrate fermenting *Salmonella* enterica subsp. enterica serovar Paratyphi B. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 72, n. 12, p. 3317-3324, 2017.

BRASIL. Instrução Normativa nº 20 de 21 de outubro de 2016. Estabelece o controle e o monitoramento de *Salmonella* spp. nos estabelecimentos avícolas comerciais de frangos e perus de corte e nos estabelecimentos de abate de frangos, galinhas, perus de corte e reprodução, registrados no Serviço de Inspeção Federal (SIF), com objetivo de reduzir a prevalência deste agente e estabelecer um nível adequado de proteção ao consumidor. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília**, 21 de out. de 2016. Seção 1, p. 13.

BRASIL. Instrução Normativa nº 45 de 22 de novembro de 2016. Proíbe, em todo o território nacional, a importação e a fabricação da substância antimicrobiana sulfato de colistina com a finalidade de aditivo zootécnico melhorador de desempenho na alimentação animal. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília**, 30 nov. 2016. Seção 1, p. 6.

BRASIL. Instrução Normativa nº 60 de 23 de dezembro de 2019. Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos prontos para oferta ao consumidor. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília**, 26 dez. 2019. Seção 1, p. 133.

BRASIL. **Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA)**. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude->

animal/programas-de-saude-animal/pnsa/programa-nacional-de-sanidade-avicola-pnsa.

Acesso em: 29 de ago. de 2024.

BROWER, C. H. et al. The prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing multidrug-resistant *Escherichia coli* in poultry chickens and variation according to farming practices in Punjab, India. **Environmental Health Perspectives**, v. 125, n. 7, p. 077015, 2017.

CAN, M. F.; CAN, H. Y.. Cost-effectiveness of animal protein consumption in Turkey. **Ciência Rural**, v. 52, p. e20210438, 2022.

CARATTOLI, A. et al. Novel plasmid-mediated colistin resistance *mcr-4* gene in *Salmonella* and *Escherichia coli*, Italy 2013, Spain and Belgium, 2015 to 2016. **Eurosurveillance**, v. 22, n. 31, p. 30589, 2017.

CARDOSO, W. M. et al. Enterobacteria isolation in broiler carcasses from commercial establishments in Fortaleza, Ceará state, Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 73, n. 4, p. 383-387, 2006.

CARPENTER, A. et al. Vaccine preventable zoonotic diseases: challenges and opportunities for public health progress. **Vaccines**, v. 10, n. 7, p. 993, 2022.

CARROLL, L. M. et al. Identification of novel mobilized colistin resistance gene *mcr-9* in a multidrug-resistant, colistin-susceptible *Salmonella enterica* serotype Typhimurium isolate. **MBio**, v. 10, n. 3, p. 10.1128/mbio.00853-19, 2019.

CEPEA. **CEPEA: Centro de Economia Aplicada em Estudos Aplicados. PIB do Agronegócio Brasileiro, 2021**. Disponível EM: <https://www.cepea.esalq.usp.br/br/pib-do-agronegocio-brasileiro.aspx> Acesso em: | novembro de 2021.

CERUTTI, M. F. et al. *Escherichia coli* in chicken carcasses in southern Brazil: absence of shigatoxigenic (STEC) and isolation of atypical enteropathogenic (aEPEC). **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 22, p. eRBCA-2019-1093, 2020.

CHADFIELD, M. S. et al. Characterization of streptococci and enterococci associated with septicemia in broiler parents with a high prevalence of endocarditis. **Avian Pathology**, v. 33, n. 6, p. 610-617, 2004.

CHAI, S. J. et al. Poultry: The most common food in outbreaks with known pathogens, United States, 1998–2012. **Epidemiology & Infection**, v. 145, n. 2, p. 316-325, 2017.

CHEN, T. et al. Genotypic characterization and antimicrobial resistance profile of *Salmonella* isolated from chicken, pork and the environment at abattoirs and supermarkets in Chongqing, China. **BMC veterinary research**, v. 15, p. 1-8, 2019.

CHEN, L. et al. Newly identified colistin resistance genes, *mcr-4* and *mcr-5*, from upper and lower alimentary tract of pigs and poultry in China. **PLoS One**, v. 13, n. 3, p. e0193957, 2018.

CHERAK, Z. et al. *MCR-5*-producing colistin-resistant *Cupriavidus gilardii* strain from well water in Batna, Algeria. **Msphere**, v. 6, n. 5, p. 10.1128/msphere.00575-21, 2021.

CHIOU, C. et al. Dissemination of *mcr-1*-carrying plasmids among colistin-resistant *Salmonella* strains from humans and food-producing animals in Taiwan. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 61, n. 7, p. 10.1128/aac.00338-17, 2017.

CHOWDHURY, M. A. H. et al. Current and future interventions for improving poultry health and poultry food safety and security: A comprehensive review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 22, n. 3, p. 1555-1596, 2023.

CISEK, A. A.; BINEK, M. Chicken intestinal microbiota function with a special emphasis on the role of probiotic bacteria. **Polish Journal of Veterinary Sciences**, v. 17, n. 2, 2014.

COHEN, J. **Statistical power analysis for the behavioral sciences**. Routledge, 2013.

CULLEN, T. W. et al. Antimicrobial peptide resistance mediates resilience of prominent gut commensals during inflammation. **Science**, v. 347, n. 6218, p. 170-175, 2015.

DA SILVA, F. B. et al. Occurrence of ESBL-producing avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) isolates in spiced chicken meat in Goias, Brazil. **Letters in Applied Microbiology**, v. 76, n. 2, p. ovac070, 2023.

DAGNEW, B. et al. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Salmonella* in poultry farms and in-contact humans in Adama and Modjo towns, Ethiopia. **Microbiology Open**, v. 9, n. 8, p. e1067, 2020.

DAHAL, R.; KHAN, L. Zoonotic Diseases and One Health Approach. **Epidemiology**, v. 4, n. 2, 2014.

DAI, D. et al. Factors shaping the human exposome in the built environment: opportunities for engineering control. **Environmental science & technology**, v. 51, n. 14, p. 7759-7774, 2017.

DANG, A. T.; MARSLAND, B. J. Microbes, metabolites, and the gut–lung axis. **Mucosal Immunology**, v. 12, n. 4, p. 843-850, 2019.

DE LIMA, M. S. et al. Prevalence of *Salmonella* spp. in poultry carcasses samples collected in slaughterhouses of Southern Brazil from 2006 to 2015. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v. 12, n. 11, p. 1034-1038, 2018.

DEC, M. et al. Biodiversity of *Ligilactobacillus salivarius* strains from poultry and domestic pigeons. **Animals**, n. 11, p. 972.

- DI MARCANTONIO, L. et al. Investigating the cecal microbiota in broiler poultry farms and its potential relationships with animal welfare. **Research in Veterinary Science**, v. 144, p. 115-125, 2022.
- DIAZ CARRASCO, J. M. et al. Microbiota, gut health and chicken productivity: what is the connection?. **Microorganisms**, v. 7, n. 10, p. 374, 2019.
- DOS SANTOS, L. D. R. et al. Co-occurrence of *mcr-1*, *mcr-3*, *mcr-7* and clinically relevant antimicrobial resistance genes in environmental and fecal samples. **Archives of Microbiology**, v. 202, p. 1795-1800, 2020.
- DOUPHRATE, D. I. Animal agriculture and the one health approach. **Journal of Agromedicine**, v. 26, n. 1, p. 85-87, 2021.
- DUMAS, A. et al. The role of the lung microbiota and the gut–lung axis in respiratory infectious diseases. **Cellular Microbiology**, v. 20, n. 12, p. e12966, 2018.
- DUNISŁAWSKA, A. et al. Health in poultry-immunity and microbiome with regard to a concept of one health. **Physical Sciences Reviews**, v. 9, n. 1, p. 477-495, 2024.
- DUNN, L. L. et al. The prevalence and concentration of *Salmonella* enterica in poultry litter in the southern United States. **Plos One**, v. 17, n. 5, p. e0268231, 2022.
- EFSA PANEL ON BIOLOGICAL HAZARDS (BIOHAZ) et al. Update of the list of QPS-recommended biological agents intentionally added to food or feed as notified to EFSA 10: Suitability of taxonomic units notified to EFSA until March 2019. **EFSA Journal**, v. 17, n. 7, p. e05753, 2019.
- ELTAI, N. O. et al. Prevalence of antibiotic-resistant *Escherichia coli* isolates from local and imported retail chicken carcasses. **Journal of Food Protection**, v. 83, n. 12, p. 2200-2208, 2020.
- ENURAH, L. et al. An outbreak of *Corynebacterium diphtheriae* infection in broiler chickens in Lagos, Nigeria. **Global Journal of Medical Research, Veterinary Sciences Veterinary Medicine**, v. 16, p. e14, 2016.
- ESTOEPANGESTIE, A. T. S. Public Awareness in ensuring Animal Originated Food Safety: A Review on “One Health” Approach in Veterinary Medicine. **KnowledgeE Life Sciences**, p. 776-781, 2017.
- EZECHUKWU, I.; SINGAL, M.; IGBINOSA, O. *Aerococcus viridans*: Case report, microbiology, and literature review. **The American Journal of Case Reports**, v. 20, p. 697, 2019.

FAO. **FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations. World Food and Agriculture – Statistical Yearbook 2023.** Disponível em: <https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/6e04f2b4-82fc-4740-8cd5-9b66f5335239/content>. Acesso em: 03 de set. de 2024.

FARIAS, C. J. et al. The relationship between poultry producers and their integrators: a case of West Region of Paraná, Brazil. **Informe Gepec**, v. 27, n. 1, p. 199-227, 2023.

FENG, Y. et al. *Streptococcus suis* infection. **Virulence**, v. 5, n. 4, p. 477-497, 2014.

FILIPPIDOU, S. et al. A combination of extreme environmental conditions favor the prevalence of endospore-forming firmicutes. **Frontiers in microbiology**, v. 7, p. 1707, 2016.

FOLEY, S. L.; LYNNE, A. M.; NAYAK, R. *Salmonella* challenges: prevalence in swine and poultry and potential pathogenicity of such isolates. **Journal of animal science**, v. 86, n. suppl_14, p. E149-E162, 2008.

FRANCO, M.; MINEIRO, C.. Inter-organisational cooperation in the context of health units: a mixed-method approach. **Kybernetes**, v. 53, n. 6, p. 1987-2006, 2024.

FUKUDA, A. et al. Conjugative IncHI2/HI2A plasmids harbouring *mcr-9* in colistin-susceptible *Escherichia coli* isolated from diseased pigs in Japan. **Access Microbiology**, v. 4, n. 11, p. 000454, 2022.

FURLAN, J. P. R. et al. Occurrence of clinically relevant antimicrobial resistance genes, including *mcr-3* and *mcr-7.1*, in soil and water from a recreation club. **International Journal of Environmental Health Research**, v. 32, n. 4, p. 819-828, 2022.

GALPERIN, M. Y. et al. Conservation and evolution of the sporulation gene set in diverse members of the Firmicutes. **Journal of Bacteriology**, v. 204, n. 6, p. e00079-22, 2022.

GAO, M. et al. Size-related bacterial diversity and tetracycline resistance gene abundance in the air of concentrated poultry feeding operations. **Environmental Pollution**, v. 220, p. 1342-1348, 2017.

GERBER, P.; OPIO, C.; STEINFELD, H. Poultry production and the environment—a review. **Animal production and health division, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Viale delle Terme di Caracalla**, v. 153, p. 1-27, 2007.

GLAJZNER, P.; SZEWCZYK, E. M.; SZEMRAJ, M.. Pathogenicity and drug resistance of animal streptococci responsible for human infections. **Journal of Medical Microbiology**, v. 70, n. 3, p. 001339, 2021.

GONZÁLEZ, M. M. et al. *Bordetella hinzii* endocarditis, a clinical case not previously described. **European Journal of Case Reports in Internal Medicine**, v. 6, n. 2, 2019.

- GRŽINIĆ, G. et al. Intensive poultry farming: A review of the impact on the environment and human health. **Science of the Total Environment**, v. 858, p. 160014, 2023.
- GUERRA-CENTENO, D. et al. Influenza A, and *Salmonella* spp. in backyard poultry eggs in Guatemala city. **Journal of World's Poultry Research**, v. 10, n. 2, p. 336-341, 2020.
- GERVASI, T. et al. Application of *Lactobacillus johnsonii* expressing phage endolysin for control of *Clostridium perfringens*. **Letters in applied microbiology**, v. 59, n. 4, p. 355-361, 2014.
- GUTIERREZ, A.; DE, J.; SCHNEIDER, K. R. Prevalence, concentration, and antimicrobial resistance profiles of *Salmonella* isolated from Florida poultry litter. **Journal of Food Protection**, v. 83, n. 12, p. 2179-2186, 2020.
- HAENNI, M. et al. Co-occurrence of extended spectrum β lactamase and *MCR-1* encoding genes on plasmids. **The Lancet infectious diseases**, v. 16, n. 3, p. 281-282, 2016.
- HAMAME, A. et al. Screening of colistin-resistant bacteria in domestic pets from France. **Animals**, v. 12, n. 5, p. 633, 2022.
- HEENEY, D. D.; GAREAU, M. G.; MARCO, M. L. Intestinal *Lactobacillus* in health and disease, a driver or just along for the ride?. **Current opinion in biotechnology**, v. 49, p. 140-147, 2018.
- HERNÁNDEZ, M. et al. Co-occurrence of colistin-resistance genes *mcr-1* and *mcr-3* among multidrug-resistant *Escherichia coli* isolated from cattle, Spain, September 2015. **Eurosurveillance**, v. 22, n. 31, p. 30586, 2017.
- HITZIGER, M. et al. Knowledge integration in One Health policy formulation, implementation and evaluation. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 96, n. 3, p. 211, 2018.
- HOFFMANN, A. R. et al. The microbiome: the trillions of microorganisms that maintain health and cause disease in humans and companion animals. **Veterinary Pathology**, v. 53, n. 1, p. 10-21, 2016.
- ISLAM, S. et al. High abundance of the colistin resistance gene *mcr-1* in chicken gut-bacteria in Bangladesh. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 17292, 2020.
- IVULIC, D. et al. Litter management strategies and their impact on the environmental and respiratory microbiome might influence health in poultry. **Microorganisms**, v. 10, n. 5, p. 878, 2022.
- JALAL, M. S. et al. First detection of plasmid-mediated colistin-resistance gene (*mcr-1*, *mcr-2* and *mcr-3*) in *Escherichia coli* isolated from breeder poultry of Bangladesh. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 101, p. 17, 2020.

- JAMIN, C. et al. Genetic analysis of plasmid-encoded *mcr*-1 resistance in Enterobacteriaceae derived from poultry meat in the Netherlands. **JAC-antimicrobial resistance**, v. 3, n. 4, p. dlab156, 2021.
- JAVED, H. et al. Emergence of plasmid-mediated *mcr* genes from Gram-negative bacteria at the human-animal interface. **Gut Pathogens**, v. 12, n. 1, p. 54, 2020.
- JOHNSON, E. L. et al. Microbiome and metabolic disease: revisiting the bacterial phylum Bacteroidetes. **Journal of Molecular Medicine**, v. 95, p. 1-8, 2017.
- JOHNSON, A. et al. Evidence of host specificity in *Lactobacillus johnsonii* genomes and its influence on probiotic potential in poultry. **Poultry science**, v. 102, n. 9, p. 102858, 2023.
- JU, X. et al. Epidemiology and Molecular Characteristics of *mcr*-9 in *Citrobacter* spp. from Healthy Individuals and Patients in China. **Microbiology Spectrum**, v. 10, n. 6, p. e01346-22, 2022.
- KHAN, I. Microbiome. **Indian Journal of Medical and Paediatric Oncology**, v. 42, n. 05, p. 461-465, 2021.
- KARIM, M. R. et al. The occurrence and molecular detection of *mcr*-1 and *mcr*-5 genes in Enterobacteriaceae isolated from poultry and poultry meats in Malaysia. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, p. 1208314, 2023.
- KASSEM, I. I. et al. First report of the plasmid-borne colistin resistance gene (*mcr*-1) in *Proteus mirabilis* isolated from domestic and sewer waters in Syrian refugee camps. **Travel Medicine and Infectious Disease**, v. 33, p. 101482, 2020.
- KATSAROU, E. I. et al. Applied proteomics in 'one health'. **Proteomes**, v. 9, n. 3, p. 31, 2021.
- KERDSIN, A. et al. Evaluation of pathotype marker genes in *Streptococcus suis* isolated from human and clinically healthy swine in Thailand. **BMC Microbiology**, v. 23, n. 1, p. 133, 2023.
- KHALID, N. et al. Comparative Study on the Predominance of *Lactobacillus* spp. and *Escherichia Coli* in Healthy vs Colibacillosis Diseased Broilers. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 25, p. eRBCA-2022-1758, 2023.
- KHALIFA, H. O. et al. First report of multidrug-resistant carbapenemase-producing bacteria coharboring *mcr*-9 associated with respiratory disease complex in pets: potential of animal-human transmission. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 65, n. 1, p. 10.1128/aac.01890-20, 2020.
- KIM, E. et al. A report of 10 unrecorded bacterial species of Korea, belonging to the phylum Firmicutes. **Journal of Species Research**, v. 5, n. 2, p. 235-240, 2016.

- LAY, K. K. et al. Colistin resistance and ESBL production in *Salmonella* and *Escherichia coli* from pigs and pork in the Thailand, Cambodia, Lao PDR, and Myanmar border area. **Antibiotics**, v. 10, n. 6, p. 657, 2021.
- LEI, L. et al. *mcr-1* in Enterobacteriaceae from companion animals, Beijing, China, 2012–2016. **Emerging Infectious Diseases**, v. 23, n. 4, p. 710, 2017.
- LEMLEM, M. et al. Phenotypic and genotypic characterization of colistin-resistant *Escherichia coli* with *mcr-4*, *mcr-5*, *mcr-6*, and *mcr-9* genes from broiler chicken and farm environment. **BMC Microbiology**, v. 23, n. 1, p. 392, 2023.
- LENCHENKO, E. M. et al. Aspects of Salmonellosis pathogenesis using chicken models. **Bali Medical Journal**, v. 8, n. 1, p. 206-210, 2019.
- LI, P. et al. First identification and limited dissemination of *mcr-1* colistin resistance in *Salmonella* isolates from Jiaying. **Journal of Food Protection**, v. 85, n. 2, p. 213-219, 2022.
- LI, Z. et al. Prevalence and characteristics of multidrug-resistant *Proteus mirabilis* from broiler farms in Shandong Province, China. **Poultry science**, v. 101, n. 4, p. 101710, 2022.
- LIANG, R. et al. Culturable airborne bacteria in outdoor poultry-slaughtering facility. **Microbes and Environments**, v. 28, n. 2, p. 251-256, 2013.
- LIU, Y. et al. Prevalence and antimicrobial resistance of *Enterococcus* species of food animal origin from Beijing and Shandong Province, China. **Journal of Applied Microbiology**, v. 114, n. 2, p. 555-563, 2013.
- LIU, Y. et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism *MCR-1* in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 16, n. 2, p. 161-168, 2016.
- LIU, W. et al. Promoting collaboration: the role of relational multiplexity in an interorganizational health justice network. **Journal of Applied Communication Research**, v. 47, n. 3, p. 303-321, 2019.
- LIU, X. et al. Increased prevalence of *Escherichia coli* strains from food carrying *bla*NDM and *mcr-1*-bearing plasmids that structurally resemble those of clinical strains, China, 2015 to 2017. **Eurosurveillance**, v. 24, n. 13, p. 1800113, 2019.
- LIU, C. et al. Prevalence and characterization of *Salmonella* from meat in slaughterhouses in Hangzhou, China. **International Journal of Food Microbiology**, v. 371, p. 109649, 2022.
- LIU, R. et al. Emergence of *mcr-8.2*-harboring hypervirulent ST412 *Klebsiella pneumoniae* strain from pediatric sepsis: a comparative genomic survey. **Virulence**, v. 14, n. 1, p. 2158980, 2023.

- LIU, X. et al. Age-associated changes in the growth development of abdominal fat and their correlations with cecal gut microbiota in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 102, n. 9, p. 102900, 2023.
- LOONG, S. K. et al, Molecular and Antimicrobial Analyses of Non-Classical *Bordetella* isolated from a mouse laboratory. **Animal Science**, v. 78, n. 4, p. 715-7, 2016
- MA, S. et al. Mobile colistin resistance gene *mcr-5* in porcine *Aeromonas hydrophila*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 73, n. 7, p. 1777-1780, 2018.
- MA, Q. et al. Implications of poultry litter usage for electricity production. **Waste Management**, v. 95, p. 493-503, 2019.
- MACIEL, W. C. et al. Isolation and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* subsp. *enterica* (O: 6, 8) in broiler chickens. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 44, p. 1-7, 2016.
- MAISON-FOMOTAR, M.; SIVASUBRAMANIAN, G.. *Bordetella hinzii* pneumonia and bacteremia in a patient with SARS-CoV-2 infection. **Emerging Infectious Diseases**, v. 27, n. 11, p. 2904, 2021.
- MAKITA, K. et al. Quantitative release assessment of *mcr*-mediated colistin-resistant *Escherichia coli* from Japanese pigs. **Food Safety**, v. 8, n. 2, p. 13-33, 2020.
- MAPA. Ministério da Agricultura e Pecuária, 2024. Síndrome Respiratória e Nervosa das Aves – Mashup. Disponível em: <https://mapa-indicadores.agricultura.gov.br/publico/extensions/SRN/SRN.html>. Acesso em: 28 de ago. de 2024.
- MARDANOVA, A. et al. Effect of probiotic strains of *Bacillus subtilis* on the growth parameters of broiler chickens and caecal microbiota. **E3S Web of Conferences**. EDP Sciences, 2020. p. 02054.
- MARKOU, N. et al. Intravenous colistin in the treatment of sepsis from multiresistant Gram-negative bacilli in critically ill patients. **Critical care**, v. 7, p. 1-6, 2003.
- MARTINS-SORENSEN, N. et al. A novel plasmid-encoded *mcr-4.3* gene in a colistin-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical strain. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 75, n. 1, p. 60-64, 2020.
- MASON-D'CROZ, D. et al. Modelling the global economic consequences of a major African swine fever outbreak in China. **Nature Food**, v. 1, n. 4, p. 221-228, 2020.
- MCKEE, L, S. et al. Polysaccharide degradation by the Bacteroidetes: mechanisms and nomenclature. **Environmental Microbiology Reports**, v. 13, n. 5, p. 559-581, 2021.

MEZALIRA, T. S. et al. Assessment of *Salmonella* spp. presence among broilers of naked neck Label Rouge lineage in Northwest region of Paraná State, Brazil. 2014.

MEEL, M. S.; SHARMA, T. Effect of feeding Moringa oleifera leaf meal as feed additive on the performance and carcass characteristics of broiler chicks. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 10, n. 01, p. 40-46, 2021.

MENGESHA, M. Feed resources and chicken production in Ethiopia. **World's Poultry Science Journal**, v. 68, n. 3, p. 491-502, 2012.

MIGURA-GARCÍA, L. et al. mcr-colistin resistance genes mobilized by IncX4, IncHI2, and IncI2 plasmids in Escherichia coli of pigs and white stork in Spain. **Frontiers in microbiology**, v. 10, p. 3072, 2020.

MIYASHITA, N. T. Contrasting soil bacterial community structure between the phyla Acidobacteria and Proteobacteria in tropical Southeast Asian and temperate Japanese forests. **Genes & Genetic Systems**, v. 90, n. 2, p. 61-77, 2015.

MOFFATT, J. H.; HARPER, M.; BOYCE, J. D. Mechanisms of polymyxin resistance. **Polymyxin antibiotics: From Laboratory Bench to Bedside**, p. 55-71, 2019.

MORO, M. Integrating the Veterinarian Scientist to the One Health Concept. **Adult Vaccinations: Changing the Immunization Paradigm**, p. 111-113, 2019.

MOTTET, A.; TEMPIO, G. Global poultry production: current state and future outlook and challenges. **World's Poultry Science Journal**, v. 73, jul, 2017.

MUMFORD, E. L. et al. Evolution and expansion of the One Health approach to promote sustainable and resilient health and well-being: A call to action. **Frontiers in Public Health**, v. 10, p. 1056459, 2023.

NAYALA, I. et al. Weight and volume estimation of poultry and products based on computer vision systems: a review. **Poultry Science**, 2021.

NEWCORBE, R. G. Interval estimation for the difference between independent proportions: comparison of eleven methods. **Statistics in Medicine**, v. 17, n. 8, p. 873-890, 1998.

NGBEDE, E. O. et al. Identification of mobile colistin resistance genes (*mcr-1.1*, *mcr-5* and *mcr-8.1*) in Enterobacteriaceae and Alcaligenes faecalis of human and animal origin, Nigeria. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 56, n. 3, p. 106108, 2020.

NGUYEN, P. T. L. et al. Carriage of plasmid-mediated colistin Resistance-1-Positive Escherichia coli in humans, animals, and environment on farms in Vietnam. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 107, n. 1, p. 65, 2022.

NHUNG, N. T.; CHANSIRIPORNCHAI, N.; CARRIQUE-MAS, J. J. Antimicrobial resistance in bacterial poultry pathogens: a review. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 4, p. 126, 2017.

NKUKWANA, T. T. Global poultry production: Current impact and future outlook on the South African poultry industry. **South African Journal of Animal Science**, v. 48, n. 5, p. 869-884, 2018.

NITTAYASUT, N. et al. Multiple and High-Risk Clones of Extended-Spectrum Cephalosporin-Resistant and bla NDM-5-Harboursing Uropathogenic *Escherichia coli* from Cats and Dogs in Thailand. **Antibiotics**, v. 10, n. 11, p. 1374, 2021.

NOENCHAT, P. et al. Prevalence and multidrug resistance of *Enterococcus* species isolated from chickens at slaughterhouses in Nakhon Ratchasima Province, Thailand. **Veterinary World**, v. 15, n. 11, p. 2535, 2022.

NOLAN, L. K. et al. Colibacillosis. **Diseases of Poultry**, p. 751-805, 2013.

NORDMANN, P. et al. Rapid Detection of Polymyxin Resistance in Enterobacteriaceae. **Emerging Infectious Diseases**, v. 22, n. 6, p. 1038-43, 2016.

OLADOKUN, S. SHARIF, S. Exploring the Complexities of Poultry Respiratory Microbiota: Colonization, Composition, and Impact on Health. **Animal Microbiome**, v. 6, n. 25, 2024.

OMS. OMS: Organização Mundial da Saúde, 2017. OMS Publica Lista de Bactérias Para as Quais Novos Antibióticos São Urgentemente Necessários. Disponível em: <https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>. Acesso em: 16 de mai. de 2024.

OSMAN, K. M. et al. Prevalence and antimicrobial resistance profile of *Staphylococcus* species in chicken and beef raw meat in Egypt. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 12, n. 5, p. 406-413, 2015.

OSMAN, K. et al. Prevalence of the antibiotic resistance genes in coagulase-positive and negative-*Staphylococcus* in chicken meat retailed to consumers. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 1846, 2016.

OUESLATI, A. et al. Assessment of bacterial diversity of industrial poultry wastewater by denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and the cultivation method in order to inform its reuse in agriculture. **BioMed Research International**, v. 2022, n. 1, p. 6065305, 2022.

PALUPI, M. F. et al. Prevalence of *mcr-1* colistin resistance gene in *Escherichia coli* along broiler meat supply chain in Indonesia. **Biotropia**, v. 26, n. 2, p. 272126, 2019.

PARENTE, C. E, T. et al. Bacterial diversity changes in agricultural soils influenced by poultry litter fertilization. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 52, n. 2, p. 675-686, 2021.

PARREY, A. H. et al. *Aerococcus viridans* infection presenting as cutaneous vasculitis in an immunocompetent patient. **Reumatologia/Rheumatology**, v. 54, n. 6, p. 318-320, 2016.

PHETBUROM, N. et al. *Klebsiella pneumoniae* Complex Harboring *mcr-1*, *mcr-7*, and *mcr-8* Isolates from Slaughtered Pigs in Thailand. **Microorganisms**, v. 9, n. 12, p. 2436, 2021.

PHUADRAKSA, T. et al. Co-occurrence of *mcr-2* and *mcr-3* genes on chromosome of multidrug-resistant *Escherichia coli* isolated from healthy individuals in Thailand. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 60, n. 4, p. 106662, 2022.

PIRES, A. F. A. et al. *Salmonella* and *Escherichia coli* prevalence in meat and produce sold at farmers' markets in Northern California. **Journal of Food Protection**, v. 83, n. 11, p. 1934-1940, 2020.

PIMENTA, R. L. et al. **Avaliação da resistência antimicrobiana e da virulência em cepas bacterianas isoladas de aves em estabelecimentos de corte e postura no estado do Rio de Janeiro**. 2018. 60 p. Tese (Doutorado em Ciência, Tecnologia e Inovação Agropecuária) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2018.

PIRS, M. et al. Screening for Colistin Resistance During Antimicrobial Susceptibility Test – Usefulness of Superpolymyxin Agar. **27° ECCMID**, Vienna, 2017.

POURABEDIN, M.; ZHAO, X.. Prebiotics and gut microbiota in chickens. **FEMS Microbiology Letters**, v. 362, n. 15, p. fnv122, 2015.

POULSEN, L. L. et al. *Enterococcus faecalis* clones in poultry and in humans with urinary tract infections, Vietnam. **Emerging Infectious Diseases**, v. 18, n. 7, p. 1096, 2012.

RAMATLA, T. et al. Molecular detection of integrons, colistin and β -lactamase resistant genes in *Salmonella* enterica serovars enteritidis and typhimurium isolated from chickens and rats inhabiting poultry farms. **Microorganisms**, v. 10, n. 2, p. 313, 2022.

RAU, R. B. et al. *Salmonella* enterica *mcr-1* positive from food in Brazil: detection and characterization. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 17, n. 3, p. 202-208, 2020.

RAUBER, R. H. Avian influenza and the Brazilian poultry production: Current situation and prevention strategies. **Journal of Veterinary Research**, v. 3, n. 4, p. 13-19, e 2023

RAVENHOLT, R. T. et al. Staphylococcal infection in meat animals and meat workers. **Public Health Reports**, v. 76, n. 10, p. 879, 1961.

RAZA, T. et al. Vancomycin resistant Enterococci: A brief review. **Journal of Pakistan Medical Association**, v. 68, n. 5, p. 768-772, 2018.

REGISTER, K. B.; SACCO, R. E.; NORDHOLM, G. E. Comparison of ribotyping and restriction enzyme analysis for inter-and intraspecies discrimination of *Bordetella avium* and *Bordetella hinzii*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, n. 4, p. 1512-1519, 2003.

REGISTER, K. B.; KUNKLE, R. A. Strain-specific virulence of *Bordetella hinzii* in poultry. **Avian Diseases**, v. 53, n. 1, p. 50-54, 2009.

REHMAN, S. et al. Avian influenza (H5N1) virus, epidemiology and its effects on backyard poultry in Indonesia: a review. **F1000Research**, v. 11, 2022.

REYES, K.; ZERVOS, M.; JOHN, J.. Enterococcal infections in adults. **Antimicrobial Drug Resistance: Clinical and Epidemiological Aspects, Volume 2**, p. 811-818, 2017.

RHOUMA, M.; MADEC, J.; LAXMINARAYAN, R.. Colistin: From the shadows to a One Health approach for addressing antimicrobial resistance. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 61, n. 2, p. 106713, 2023.

RIVETTI JR, A. V. et al. Phylodynamics of avian influenza A (H5N1) viruses from outbreaks in Brazil. **Virus Research**, v. 347, p. 199415, 2024.

ROCK, C.; DONNENBERG, M. S. Human Pathogenic *Enterobacteriaceae*. **Reference Module in Biomedical Research**, 2014.

RODRIGUEZ, J. M.; RONDÓN, I. S.; VERJAN, N. Serotypes of *Salmonella* in Broiler Carcasses Marketed at Ibagué, Colombia. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 17, p. 545-552, 2015.

RORTANA, C. et al. Prevalence of *Salmonella* spp. and *Staphylococcus aureus* in chicken meat and pork from Cambodian markets. **Pathogens**, v. 10, n. 5, p. 556, 2021.

ROSKEY, C. T.; HAMDY, M. K. Bruised poultry tissue as a possible source of staphylococcal infection. **Applied microbiology**, v. 23, n. 4, p. 683-687, 1972.

ROTHROCK JR M. J. et al. Antibiotic resistance, antimicrobial residues, and bacterial community diversity in pasture-raised poultry, swine, and beef cattle manures. **Journal of Animal Science**, v. 99, n. 8, p. skab144, 2021.

RUBIO, L. A. et al. Correlations between changes in intestinal microbiota composition and performance parameters in broiler chickens. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 99, n. 3, p. 418-423, 2015.

RUIZ, P. MARTINE, M. V. P. CALLEJA, L. A. I. Respiratory infection caused by *Bordetella hinzii*. **Archivos de Bronconeumologia**, v. 49, n. 9, p. 369-412, 2013.

RUSSELL, A. B. et al. A type VI secretion-related pathway in *Bacteroidetes* mediates interbacterial antagonism. **Cell Host & Microbe**, v. 16, n. 2, p. 227-236, 2014.

RYCHLIK, I.; KARASOVA, D.; CRHANOVA, M.. Microbiota of chickens and their environment in commercial production. **Avian Diseases**, v. 67, n. 1, p. 1-9, 2023.

SANCHES, M. S. et al. Genotypic and phenotypic profiles of virulence factors and antimicrobial resistance of *Proteus mirabilis* isolated from chicken carcasses: potential zoonotic risk. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 50, p. 685-694, 2019.

SCHMIDT, M. M. et al. Characterization of hydrolysates of collagen from mechanically separated chicken meat residue. **Food Science and Technology**, v. 40, p. 355-362, 2020.

SELLE, K.; KLAENHAMMER, T. R. Genomic and phenotypic evidence for probiotic influences of *Lactobacillus gasseri* on human health. **FEMS microbiology reviews**, v. 37, n. 6, p. 915-935, 2013.

SEONG, C. N. et al. Taxonomic hierarchy of the phylum Firmicutes and novel Firmicutes species originated from various environments in Korea. **Journal of Microbiology**, v. 56, p. 1-10, 2018.

SEONG, C. N. et al. Taxonomic hierarchy of the phylum Proteobacteria and Korean indigenous novel Proteobacteria species. **Journal of Species Research**, v. 8, n. 2, p. 197-214, 2019.

SERGEANT, M. J. et al. Extensive microbial and functional diversity within the chicken cecal microbiome. **PloS One**, v. 9, n. 3, p. e91941, 2014.

SHABBIR, M. Z. et al. Microbial communities present in the lower respiratory tract of clinically healthy birds in Pakistan. **Poultry Science**, v. 94, n. 4, p. 612-620, 2015.

SHERIDAN, P. O. et al. Heterologous gene expression in the human gut bacteria *Eubacterium rectale* and *Roseburia inulinivorans* by means of conjugative plasmids. **Anaerobe**, v. 59, p. 131-140, 2019.

SHEVCHENKO, L. V. et al. Contamination of hen manure with nine antibiotics in poultry farms in Ukraine. **Regulatory Mechanisms in Biosystems**, v. 10, n. 4, 2019.

SHRESTHA, K.; ACHARYA, K. P.; SHRESTHA, S. One health: The interface between veterinary and human health. **International Journal of One Health**, v. 4, n. 2, p. 8-14, 2018.

SLATTERY, C.; COTTER, P. D.; W. O'TOOLE, P.. Analysis of health benefits conferred by *Lactobacillus* species from kefir. **Nutrients**, v. 11, n. 6, p. 1252, 2019.

SLEEMAN, J. M. et al. Integration of wildlife and environmental health into a One Health approach. **Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)**, v. 38, n. 1, p. 91-102, 2019.

SOUILLARD, R. et al. Increasing incidence of *Enterococcus*-associated diseases in poultry in France over the past 15 years. **Veterinary Microbiology**, v. 269, p. 109426, 2022.

STANLEY, D. et al. Comparison of fecal and cecal microbiotas reveals qualitative similarities but quantitative differences. **BMC Microbiology**, v. 15, p. 1-11, 2015.

STĘPIEŃ-PYŚNIAK, D. et al. Prevalence and antibiotic resistance of *Enterococcus* strains isolated from poultry. **Acta Veterinaria Hungarica**, v. 64, n. 2, p. 148-163, 2016.

STREINU-CERCEL, A.. Colistin in the management of severe infections with multidrug resistant Gram-negative bacilli. **Germs**, v. 4, n. 1, p. 7, 2014.

SUN, J. et al. Co-occurrence of *mcr-1* in the chromosome and on an IncHI2 plasmid: persistence of colistin resistance in *Escherichia coli*. **International journal of antimicrobial agents**, v. 51, n. 6, p. 842-847, 2018.

SUN, Q. et al. *Leclercia adecarboxylata* from human gut flora carries *mcr-4.3* and *bla IMP-4*-bearing plasmids. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 2805, 2019.

SUN, R. et al. Carriage and transmission of *mcr-1* in *Salmonella* typhimurium and its monophasic 1, 4,[5], 12: i:-variants from diarrheal outpatients: a 10-year genomic epidemiology in Guangdong, Southern China. **Microbiology Spectrum**, v. 11, n. 1, p. e03119-22, 2023.

SUN, Y. et al. Association among biofilm formation, virulence gene expression, and antibiotic resistance in *Proteus mirabilis* isolates from diarrhetic animals in Northeast China. **BMC Veterinary Research**, v. 16, p. 1-10, 2020.

SUZUKI, M. T.; GIOVANNONI, S. J. Bias caused by template annealing in the amplification of mixtures of 16S rRNA genes by PCR. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 62, n. 2, p. 625-30, 1996

SZAFRANIEC, G. M.; SZELESZCZUK, P.; DOLKA, B.. A review of current knowledge on *Staphylococcus agnetis* in poultry. **Animals**, v. 10, n. 8, p. 1421, 2020.

TIAN, M. et al. Pollution by antibiotics and antimicrobial resistance in livestock and poultry manure in China, and countermeasures. **Antibiotics**, v. 10, n. 5, p. 539, 2021.

TIMMERMANS, M. et al. Colistin resistance genes *mcr-1* to *mcr-5*, including a case of triple occurrence (*mcr-1*, -3 and -5), in *Escherichia coli* isolates from faeces of healthy pigs, cattle and poultry in Belgium, 2012–2016. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 57, n. 6, p. 106350, 2021.

TONG, S. Y. C. et al. *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 28, n. 3, p. 603-661, 2015.

TONG, H. et al. High carriage rate of *mcr*-1 and antimicrobial resistance profiles of *mcr*-1-positive *Escherichia coli* isolates in swine faecal samples collected from eighteen provinces in China. **Veterinary Microbiology**, v. 225, p. 53-57, 2018.

UDDIN, M. B. et al. Multidrug antimicrobial resistance and molecular detection of *MCR*-1 gene in *Salmonella* species isolated from chicken. **Animals**, v. 11, n. 1, p. 206, 2021.

UHLEMANN, A. et al. Evolution of community- and healthcare-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 21, p. 563-574, 2014.

USDA. **USDA: Economic Reserach Service – U.S. Departamente of Agriculture, 2023. Poultry & Eggs.** Disponível em: <https://www.ers.usda.gov/topics/animal-products/poultryeggs#:~:text=Recent%20USDA%2C%20ERS%20publications%20relating%20to%20poultry%20and,pork%20but%20less%20than%20total%20red%20meat%20consumption>. Acesso em: 9 de mai. de 2024.

UZUNDUMLU, A. S.; DILLI, M. Estimating chicken meat productions of leader countries for 2019-2025 years. **Ciência Rural**, v. 53, p. e20210477, 2022.

VAILLANCOURT, J. P., ELFADIL, A., BISAILLON, J. R. Cellulitis in the broiler fowl. **Medicine Veterinaire Quebec**, v. 22, p. 168-172, 1992.

VALIAKOS, G.; KAPNA, I. Colistin resistant *mcr* genes prevalence in livestock animals (swine, bovine, poultry) from a multinational perspective. A systematic review. **Veterinary Science**, v. 8, n. 265, 2021.

VAN TYNE, D et al. Impact of antibiotic treatment and host innate immune pressure on enterococcal adaptation in the human bloodstream. **Science Translational Medicine**, v. 11, n. 487, p. eaat8418, 2019.

VANDANA, G. D. et al. Heat stress and poultry production: impact and amelioration. **International Journal of Biometeorology**, out, 2020.

VIDENSKA, P. et al. Characterization of egg laying hen and broiler fecal microbiota in poultry farms in Croatia, Czech Republic, Hungary and Slovenia. **PLoS One**, v. 9, n. 10, p. e110076, 2014.

WAHEED, M. et al. Channelling eggshell waste to valuable and utilizable products: a comprehensive review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 106, p. 78-90, 2020.

WANG, Y. et al. Comprehensive resistome analysis reveals the prevalence of NDM and *MCR*-1 in Chinese poultry production. **Nature Microbiology**, v. 2, n. 4, p. 1-7, 2017.

WANG, R. et al. The prevalence of colistin resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from food animals in China: coexistence of *mcr-1* and blaNDM with low fitness cost. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 51, n. 5, p. 739-744, 2018.

WANG, X. et al. Emergence of a novel mobile colistin resistance gene, *mcr-8*, in NDM-producing *Klebsiella pneumoniae*. **Emerging Microbes & Infections**, v. 7, n. 1, p. 1-9, 2018.

WANG, Z. et al. Genetic environment of colistin resistance genes *mcr-1* and *mcr-3* in *Escherichia coli* from one pig farm in China. **Veterinary Microbiology**, v. 230, p. 56-61, 2019.

WANG, J. et al. A respiratory commensal bacterium acts as a risk factor for *Mycoplasma gallisepticum* infection in chickens. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 230, p. 110-127, 2020.

WANG, M. et al. Mild heat stress changes the microbiota diversity in the respiratory tract and the cecum of layer-type pullets. **Poultry Science**, v. 99, n. 12, p. 7015-7026, 2020.

WANG, Y. et al. Changes in colistin resistance and *mcr-1* abundance in *Escherichia coli* of animal and human origins following the ban of colistin-positive additives in China: an epidemiological comparative study. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 20, n. 10, p. 1161-1171, 2020.

WANG, G. et al. Colistin-resistance *mcr* genes in *Klebsiella pneumoniae* from companion animals. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 25, p. 35-36, 2021.

WANG, X. et al. Molecular genetic characteristics of *mcr-9*-harbouring *Salmonella enterica* serotype Typhimurium isolated from raw milk. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 57, n. 5, p. 106332, 2021.

WANG, Y. et al. More diversified antibiotic resistance genes in chickens and workers of the live poultry markets. **Environment International**, v. 153, p. 106534, 2021.

WANG, Z. et al. Prevalence and molecular characterization of *mcr-1*-positive foodborne ST34-*Salmonella* isolates in China. **Microbiological Research**, v. 274, p. 127441, 2023.

WANG, F.; ZHANG, W.; NIU, D.. Foodborne enterobacteriaceae of animal origin. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 11, p. 772359, 2021.

WEGMANN, U.. Complete genome sequence of *Lactobacillus johnsonii* FI9785, a competitive exclusion agent against pathogens in poultry. **Journal of Bacteriology**, v. 191, n. 22, p. 7142-7143, 2009.

WOODS, A. et al. The Parasitological Pursuit: Crossing Species and Disciplinary Boundaries with Calvin W. Schwabe and the *Echinococcus* Tapeworm, 1956–1975. **Animals and the Shaping of Modern Medicine: One Health and its Histories**, p. 161-191, 2018.

WONGSRICHAI, S.; PHUEKTES, P.; JITTIMANEE, S. Multidrug-resistance and mobile colistin resistance (*mcr*) genes of *Salmonella* isolates from pork in Thailand during 2014-2017: comparison between two different types of slaughterhouses and retails. 2021.

XAVIER, B. B. et al. Identification of a novel plasmid-mediated colistin-resistance gene, *mcr*-2, in *Escherichia coli*, Belgium, June 2016. **Eurosurveillance**, v. 21, n. 27, p. 30280, 2016.

XIAO, Y. et al. Microbial community mapping in intestinal tract of broiler chicken. **Poultry Science**, v. 96, n. 5, p. 1387-1393, 2017.

XU, T. et al. A novel host of *MCR*-5 belonging to *Enterobacter* spp. isolated from hospital sewage water. **Environmental Microbiology Reports**, v. 13, n. 2, p. 234-237, 2021.

YADAV, S. et al. Cecal microbiome profile of Hawaiian feral chickens and pasture-raised broiler (commercial) chickens determined using 16S rRNA amplicon sequencing. **Poultry Science**, v. 100, n. 7, p. 101181, 2021.

YAMAGAMI, Y. et al. Prevalence and antimicrobial resistance of *Enterococcus* spp. isolated from animal feed in Japan. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 10, p. 1328552, 2024.

YANG, Y. et al. Novel plasmid-mediated colistin resistance gene *mcr*-7.1 in *Klebsiella pneumoniae*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 73, n. 7, p. 1791-1795, 2018.

YANG, X. et al. Effects of encapsulated organic acids and essential oils on intestinal barrier, microbial count, and bacterial metabolites in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 98, n. 7, p. 2858-2865, 2019.

YANG, C. et al. Dissemination of bla NDM-5 and *mcr*-8.1 in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella quasipneumoniae* in an animal breeding area in Eastern China. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 1030490, 2022.

YANG, L. et al. Distinct increase in antimicrobial resistance genes among *Escherichia coli* during 50 years of antimicrobial use in livestock production in China. **Nature Food**, v. 3, n. 3, p. 197-205, 2022.

YANG, M. et al. Dynamic changes in the gut microbial community and function during broiler growth. **Microbiology Spectrum**, v. 10, n. 4, p. e01005-22, 2022.

YANG, Q. et al. Identification of an intestinal microbiota signature associated with the severity of necrotic enteritis. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 703693, 2021.

YANG, J. et al. *Ligilactobacillus Salivarius* improve body growth and anti-oxidation capacity of broiler chickens via regulation of the microbiota-gut-brain axis. **BMC Microbiology**, v. 23, n. 1, p. 395, 2023.

YARFITZ, S. L., et al. Application of 16S rRNA gene sequencing to identify *Bordetella hinzii* as the causative agent of fatal septicemia. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 38, p. 789-794, 2000.

YEHIA, N. et al. Common viral and bacterial avian respiratory infections: an updated review. **Poultry Science**, v. 102, n. 5, p. 102553, 2023.

YIN, W. et al. Novel plasmid-mediated colistin resistance gene *mcr-3* in *Escherichia coli*. **MBio**, v. 8, n. 3, p. 10.1128/mbio.00543-17, 2017.

YIN, Z. et al. Cecal microbial succession and its apparent association with nutrient metabolism in broiler chickens. **Msphere**, v. 8, n. 3, p. e00614-22, 2023.

ZAMPIGA, M.; CALINI, F.; SIRRI, F. Importance of feed efficiency for sustainable intensification of chicken meat production: implications and role for amino acids, feed enzymes and organic trace minerals. **World's Poultry Science Journal**, v. 77, n. 3, p. 639-659, 2021.

ZENG, H. et al. *Salmonella* prevalence and persistence in industrialized poultry slaughterhouses. **Poultry Science**, v. 100, n. 4, p. 100991, 2021.

ZENG, T. et al. Unraveling the gut microbiota of Tibetan chickens: insights into highland adaptation and ecological advantages. **bioRxiv**, p. 2024.02.19.581084, 2024.

ZHANG, G.; MA, L.; DOYLE, M. P. Salmonellae reduction in poultry by competitive exclusion bacteria *Lactobacillus salivarius* and *Streptococcus cristatus*. **Journal of food protection**, v. 70, n. 4, p. 874-878, 2007.

ZHANG, J. et al. Molecular detection of colistin resistance genes (*mcr-1*, *mcr-2* and *mcr-3*) in nasal/oropharyngeal and anal/cloacal swabs from pigs and poultry. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 3705, 2018.

ZHANG, J. et al. Molecular detection of colistin resistance genes (*mcr-1* to *mcr-5*) in human vaginal swabs. **BMC Research Notes**, v. 11, p. 1-4, 2018.

ZHANG, L. et al. Highly prevalent multidrug-resistant *Salmonella* from chicken and pork meat at retail markets in Guangdong, China. **Frontiers in microbiology**, v. 9, p. 2104, 2018.

ZHANG, X. et al. Colistin resistance prevalence in *Escherichia coli* from domestic animals in intensive breeding farms of Jiangsu Province. **International Journal of Food Microbiology**, v. 291, p. 87-90, 2019.

ZHANG, Z. et al. Molecular investigation of *Klebsiella pneumoniae* from clinical companion animals in Beijing, China, 2017–2019. **Pathogens**, v. 10, n. 3, p. 271, 2021.

ZHANG, X. et al. Chicken jejunal microbiota improves growth performance by mitigating intestinal inflammation. **Microbiome**, v. 10, n. 1, p. 107, 2022.

ZHOU, Y. et al. The alterations of tracheal microbiota and inflammation caused by different levels of ammonia exposure in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 100, n. 2, p. 685-696, 2021.

ZHOU, H. et al. Carriage of the *mcr-9* and *mcr-10* genes in clinical strains of the *Enterobacter cloacae* complex in China: a prevalence and molecular epidemiology study. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 60, n. 4, p. 106645, 2022.

8. ANEXOS

ANEXO 1- *Primers* utilizados na caracterização das espécies bacterianas e na detecção de genes *mcr*.

Gene/ Produto de PCR	Sequência (5'-3')	Programa
<i>16S</i> rRNA (756 pb)	AACTCTGTTATTAGGGAAGAACA CCACCTTCCTCCGTTTGTCCACC	94 °C por 5 min; 30 ciclos (94 °C por 1 min, 55 °C por 1 min e 72 °C for 1 min) e uma extensão final por 72 °C por 10 min.
<i>mcr-1</i> (320 pb)	AGTCCGTTTGTCTTGTGGC AGATCCTTGGTCTCGGCTTG	
<i>mcr-2</i> (715 pb)	CAAGTGTGTTGGTCGCAGTT TCTAGCCCCGACAAGCATACC	
<i>mcr-3</i> (929 pb)	AAATAAAAATTGTTCCGCTTATG AATGGAGATCCCCGTTTTT	
<i>mcr-4</i> (1116 pb)	TCACTTTCATCACTGCGTTG TTGGTCCATGACTACCAATG	
<i>mcr-5</i> (1644 pb)	ATGCGGTTGTCTGCATTTATC TCATTGTGGTTGTCCTTTTCTG	94°C por 15 min; 25 ciclos de (94°C por 30 seg, 58°C por 1:30 min e 72°C por 60 seg) e uma extensão final de 72°C por 10 min.
<i>mcr-6</i> (252 pb)	GTCCGGTCAATCCCTATCTGT ATCACGGGATTGACATAGCTAC	
<i>mcr-7</i> (551 pb)	TGCTCAAGCCCTTCTTTTCGT TTCATCTGCGCCACCTCGT	
<i>mcr-8</i> (856 pb)	AACCGCCAGAGCACAGAATT TTCCCCCAGCGATTCTCCAT	
<i>mcr-9</i> (1011 pb)	GTATCCTTCCTGCCATCCTC CTTTCCATAACAGCGAGACAC	

ANEXO 2. Tabela suplementar contendo as espécies de ECN isoladas.

Espécie	Sítio	Nº de isolados
<i>S. gallinarum</i>	Cloaca	8
<i>S. gallinarum</i>	Traqueia	20
<i>S. simulans</i>	Cloaca	19
<i>S. simulans</i>	Traqueia	3
<i>S. sciuri</i>	Cloaca	6
<i>S. sciuri</i>	Traqueia	9
<i>S. alerttae</i>	Cloaca	5
<i>S. alerttae</i>	Traqueia	3
<i>S. chromogenes</i>	Cloaca	2
<i>S. chromogenes</i>	Traqueia	4
<i>S. ureilyticus</i>	Cloaca	2
<i>S. ureilyticus</i>	Traqueia	1
<i>S. ureilyticus</i>	Cama	2
<i>S. xylosus</i>	Cloaca	2
<i>S. xylosus</i>	Traqueia	2
<i>S. saprophyticus</i>	Cloaca	1
<i>S. saprophyticus</i>	Traqueia	2
<i>S. cohnii</i>	Traqueia	2
<i>S. epidermidis</i>	Traqueia	2
<i>S. hameolyticus</i>	Cloaca	2
<i>S. hominis</i>	Cloaca	1
<i>S. hominis</i>	Traqueia	1
<i>S. caprae</i>	Traqueia	1
<i>S. lentus</i>	Traqueia	1
<i>S. warneri</i>	Traqueia	1

ANEXO 3. Certificados de aprovação na Comissão de Ética no Uso de Animais.



UFRRJ
Universidade Federal Rural
do Rio de Janeiro

**Comissão de Ética no
Uso de Animais**
Instituto de Veterinária



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Resistência e virulência em patógenos bacterianos e estudos de resistoma em ambientes de produção animal [uma abordagem de Saúde Única]", protocolada sob o CEUA nº 6239180418 (ID 001020), sob a responsabilidade de **Miliane Moreira Soares de Souza** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (CEUA/UFRRJ) na reunião de 17/07/2018.

We certify that the proposal "Resistance and virulence of bacterial pathogens and resistome analysis in animal production environment [an One Health approach]", utilizing 100 Bovines (100 females), 30 Birds (males and females), protocol number CEUA 6239180418 (ID 001020), under the responsibility of **Miliane Moreira Soares de Souza** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Veterinary Institute of Rural Federal University of Rio de Janeiro (CEUA/UFRRJ) in the meeting of 07/17/2018.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de **07/2018** a **03/2021**

Área: **Microbiologia E Imunologia Veterinária**

Origem: **Animais provenientes de estabelecimentos comerciais**

Espécie: **Bovinos** sexo: **Fêmeas** idade: **1 a 8 anos** N: **100**

Linhagem: **não se aplica** Peso: **300 a 400 kg**

Origem: **Animais provenientes de estabelecimentos comerciais**

Espécie: **Aves** sexo: **Machos e Fêmeas** idade: **30 a 37 dias** N: **30**

Linhagem: **não se aplica** Peso: **1 a 3 kg**

Local do experimento: **propriedades comerciais de produção leiteira e avícola**

Seropédica, 02 de julho de 2019

Prof. Dr. Fabio Barbour Scott
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Carlos Alexandre Rey Matias
Vice-Coodenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro



CERTIFICADO : EMENDA v05/05/2023

Certificamos que a EMENDA (versão de 05/05/2023) da proposta intitulada "Resistência e virulência em patógenos bacterianos e estudos de resistoma em ambientes de produção animal - uma abordagem de Saúde Única", CEUA nº 6239180418 (ID 016665), sob a responsabilidade de **Milliane Moreira Soares de Souza e equipe; Letícia Baptista Pinto; Caio Nunes Christoffe Simões ; Marcelo Carvalho Gomes; Daniel Carvalho Hainfellner; Shana de Mattos de Oliveira Coelho; Marcela Barlette Mendes; Ana Carla Dos Santos Pereira; Paulo Roberto Lima de Azevedo Junior ; Dayanne Araújo de Melo; Luana de Oliveira Silva; Soraya Stephanie de Frias; Irene da Silva Coelho; Mario Tatsuo Makita; Theresse Camille Nascimento Holmstrom** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos vigentes para sua apresentação, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), sendo assim **APROVADO** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (CEUA/UFRRJ) em 31/05/2023.

Pedido apresentado à CEUA: Solicito a prorrogação do prazo de certificação para março de 2025, uma vez que o prazo de liberação de recursos foi prorrogado por conta da pandemia. Solicito a atualização de membros participantes com a inclusão de cinco colaboradores, sendo quatro alunos de Pós-Graduação e dois alunos de Graduação; bem como a exclusão de um membro e a alteração de dados cadastrais de três membros já inclusos neste protocolo.

Considerações da CEUA: Sugiro aprovação da prorrogação considerando o novo prazo de liberação de recursos pela agência de fomento devido a pandemia da COVID-19. Sobre os membros mantidos ou adicionados, nenhum terá interação direta com os animais e irão participar de processamento de amostras ou de dados (sem demanda de treinamento). Sugiro aprovação

Término previsto: 03/2025

Origem: Animais provenientes de estabelecimentos comerciais

Espécie: Aves

sexo: Machos e Fêmeas

idade: 30 a 37 dias

Quantidade
mantida: 10

Linagem: não se aplica

Peso: 1 a 3 kg

Origem: Animais provenientes de estabelecimentos comerciais

Espécie: Bovinos

sexo: Fêmeas

idade: 1 a 8 anos

Quantidade
mantida: 10

Linagem: não se aplica

Peso: 300 a 400 kg

ANIMAIS UTILIZADOS

		Total Aprovado	Quantidade Utilizada
Aves	Machos e Fêmeas	30	0
Bovinos	Fêmeas	100	0

Seropédica, 11 de julho de 2024

