

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CAMPUS FREDERICO WESTPHALEN
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
AMBIENTAL

Ana Paula Corteze Locatelli

IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR E ANTIBIOGRAMA DE *Salmonella enterica* ENCONTRADA EM MICROBACIA NO NOROESTE DO RIO GRANDE DO SUL

Frederico Westphalen, RS
2023

Ana Paula Corteze Locatelli

**IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR E ANTIBIOGRAMA DE *Salmonella enterica*
ENCONTRADA EM MICROBACIA NO NOROESTE DO RIO GRANDE DO SUL**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), campus Frederico Westphalen, como requisito parcial para a obtenção do título de **Mestre em Ciência e Tecnologia Ambiental**.

Orientadora: Prof^a Dra. Hilda Hildebrand Soriani
Coorientador: Prof. Dr. Genesio Mario da Rosa

Frederico Westphalen, RS
2023

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001

Locatelli, Ana Paula Corteze
IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR E ANTIBIOGRAMA DE Salmonella
enterica ENCONTRADA EM MICROBACIA NO NOROESTE DO RIO
GRANDE DO SUL / Ana Paula Corteze Locatelli.- 2023.
54 p.; 30 cm

Orientadora: Hilda Hildebrand Soriani
Coorientador: Genesio Mario da Rosa
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Campus de Frederico Westphalen, Programa de Pós
Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, RS, 2023

1. O presente trabalho teve como objetivo a
verificação da existência do patógeno Salmonella enterica
e a suscetibilidade antimicrobiana das cepas encontradas
na microbacia do Lajeado do Pardo na zona rural do
município de Frederico Westphalen, localizado na região
noroeste do Estado do Rio Grande do Sul. I. Hildebrand
Soriani, Hilda II. Mario da Rosa, Genesio III. Título.

sistema de geração automática de ficha catalográfica da usm. dados fornecidos pelo
autor(a). sob supervisão da direção da divisão de processos técnicos da biblioteca
central. biblioteca responsável paula schoenfeldt vatta cma 10/1728.

Declaro, ANA PAULA CORTEZE LOCATELLI, para os devidos fins e sob as
penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de
curso (Dissertação) foi por mim elaborada e que as informações
necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão
devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte
dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro
grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente
declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade,
entre outras consequências legais.

Ana Paula Corteze Locatelli

**IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR E ANTIBIOGRAMA DE *Salmonella enterica*
ENCONTRADA EM MICROBACIA NO NOROESTE DO RIO GRANDE DO SUL**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), campus Frederico Westphalen, como requisito parcial para a obtenção do título de **Mestre em Ciência e Tecnologia Ambiental**.

Hilda Hildebrand Soriani, Dra. (UFSM)
(Presidente/Orientadora)

Jefferson Costa Junior, Dr. (UFSM)

Alexandre Tiburski Neto, Dr. (UNOESC)

Frederico Westphalen, RS
2023

Dedico esta dissertação à minha Família, principalmente à minha mãe que sempre me apoiou e auxiliou neste período de tantas mudanças em minha vida. Ao meu marido e a minha pessoa favorita neste mundo minha pequena Júlia. Dedico também aos meus amigos e colegas de laboratório, por toda ajuda, neste período.

AGRADECIMENTOS

Sempre fui meio cética quanto as minhas crenças mas, após esta nova fase da vida onde tive o privilégio de gerar uma nova vida em meu ventre passamos a acreditar que realmente deve haver algo maior regendo este universo por isto primeiramente agradeço à Deus, pela vida, pela saúde e pelas pessoas maravilhosas que fazem parte da minha jornada.

Aos meus pais, meu marido e minha irmã cujo amor incondicional e encorajamento constante foram fundamentais para a minha conquista. Obrigado por acreditarem em mim e por me fornecerem todas as oportunidades necessárias para o meu crescimento intelectual.

À minha orientadora Hilda Hildebrand Soriani e meu coorientador Genesio Mario da Rosa, cuja sabedoria, orientação e paciência foram imprescindíveis para o desenvolvimento desta pesquisa.

Aos meus amigos e colegas de laboratório, que compartilharam comigo não apenas as alegrias, mas também os desafios e obstáculos desta jornada acadêmica. Suas discussões estimulantes e apoio mútuo foram essenciais para o meu crescimento pessoal e acadêmico. Meu muito obrigada principalmente aos meninos por toda a ajuda na parte experimental.

A todos os professores e demais membros da universidade, que me proporcionaram um ambiente de aprendizado enriquecedor. Suas lições, conhecimentos e feedbacks foram fundamentais para o meu desenvolvimento acadêmico.

E por fim mas, não menos importante a luz dos meus dias minha pequena Júlia a qual me acompanhou por meses de pesquisa, a razão da minha vida.

Espero que todos os mencionados nesta dedicação sintam-se honrados por fazerem parte desta jornada e saibam que sou grata pela contribuição de cada um de vocês em minha formação acadêmica e pessoal.

“Educação não transforma o mundo. Educação muda
as pessoas. Pessoas transformam o mundo.”

(Paulo Freire)

RESUMO

IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR E ANTIBIOGRAMA DE *Salmonella enterica* ENCONTRADA EM MICROBACIA NO NOROESTE DO RIO GRANDE DO SUL

AUTORA: Ana Paula Corteze Locatelli
ORIENTADORA: Hilda Hildebrand Soriani

A qualidade dos recursos hídricos utilizados para a agricultura, o consumo humano, a cadeia produtiva e no processamento e higienização dos alimentos, desempenham um importante papel na disseminação de doenças, principalmente aquelas associadas à presença de contaminantes como coliformes termotolerantes e *Salmonella* sp. A presença de *Salmonella* nas águas de rios e mananciais, pode levar a graves problemas de contaminação alimentícia, podendo provocar surtos de salmonelose e infecções associadas ao seu gênero. Outra preocupação é a resistência microbiana, relacionada a diminuição da sensibilidade da cepa frente a um agente antimicrobiano, acarretando em infecções severas e de difícil tratamento e controle. Em virtude de todos esses fatores, o presente trabalho teve como objetivo a verificação da existência do patógeno *Salmonella enterica* na microbacia do Lajeado do Pardo na zona rural do município de Frederico Westphalen, localizado na região noroeste do Estado do Rio Grande do Sul. As coletas de amostras de água foram realizadas em cinco pontos distintos ao longo do curso do Lajeado do Pardo, as amostras foram analisadas no Laboratório de Águas da Universidade Federal de Santa Maria – Campus FW sendo verificadas a presença de coliformes totais e *E. coli* utilizando o método do teste Colilert®. As cepas de *Salmonella enterica* foram isoladas com a metodologia ABNT NBR ISO 6579-1 modificada e a identificação ocorreu através da técnica de PCR usando *primers* SE Inv. A resistência aos antimicrobianos foi verificada nas cepas ambientais encontradas, através do método de disco-difusão para os antibióticos: AMP (ampicilina) 10 µg/mL, CLO (clorofenicol) 30 µg/mL, GEN (gentamicina) 10 µg/mL, CIP (ciprofloxacina) 5 µg/mL e AMC (amoxicilina/ácido clavulânico) 30 µg/mL. Os resultados obtidos foram positivos para coliformes, *E. coli* e para *Salmonella enterica* em todos os cinco pontos de coleta. Todas as cepas de *Salmonella enterica* avaliadas apresentaram resistência ao antibiótico AMP e 60% das cepas de *S. enterica* apresentaram resistência ao antibiótico AMC. Em relação aos demais antibióticos testados (CLO, CIP e GEN) as cepas de *S. enterica* foram suscetíveis.

Palavras-Chave: Antibiótico. Resistência. Cepas. PCR.

ABSTRACT

MOLECULAR IDENTIFICATION AND ANTIBIOGRAM OF *Salmonella enterica* FOUND IN MICROBASIN IN THE NORTHWEST OF RIO GRANDE DO SUL

AUTHOR: Ana Paula Corteze Locatelli
ADVISOR: Hilda Hildebrand Soriani

The quality of water resources used for agriculture, human consumption, the production chain and food processing and hygiene play an important role in the spread of diseases, especially those associated with the presence of contaminants such as thermotolerant coliforms and *Salmonella* sp. The presence of *Salmonella* in river and spring water can lead to serious food contamination problems, which can cause outbreaks of salmonellosis and infections associated with its genus. Another concern is microbial resistance, related to the strain's decreased sensitivity to an antimicrobial agent, leading to severe infections that are difficult to treat and control. In view of all these factors, the aim of this study was to verify the existence of the pathogen *Salmonella enterica* in the Lajeado do Pardo watershed in the rural area of the municipality of Frederico Westphalen, located in the northwestern region of the state of Rio Grande do Sul. The samples were collected at five different points along the course of the Lajeado do Pardo, after which they were analyzed at the Water Laboratory of the Federal University of Santa Maria - FW Campus, where they were tested for total coliforms and *E. coli* using the Colilert® test method. The *Salmonella enterica* strains were isolated using the modified ABNT NBR ISO 6579-1 methodology and identified using the PCR technique using SE Inv pri-mers. The antimicrobial resistance of the environmental strains found was checked using the disk-diffusion method for the following antibiotics: AMP (ampicillin) 10 µg/mL, CLO (chlorophenicol) 30 µg/mL, GEN (gentamicin) 10 µg/mL, CIP (ciprofloxacin) 5 µg/mL and AMC (amoxicillin/clavulanic acid) 30 µg/mL. The results obtained were positive for coliforms, *E. coli* and *Salmonella enterica* at all five collection points. All the *Salmonella enterica* strains evaluated showed resistance to the AMP antibiotic and 60% of the *S. enterica* strains showed resistance to the AMC antibiotic. *S. enterica* strains were susceptible to the other antibiotics tested (CLO, CIP and GEN).

Keywords: Antibiotics. Resistance. Strains. PCR

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Mapa de palavras-chave (ou termos) relacionados com <i>Salmonella</i> spp.....	17
Figura 2 – Mapa identificando os pontos de coletas realizadas ao longo do Lajeado do Pardo.....	29
Figura 3 – Forma de coleta de água (A) e frascos com amostras coletadas (B).....	30
Figura 4 – Foto das colônias características de <i>Salmonella</i> spp. em XLD.....	32
Figura 5 – Teste Colilert®.....	36
Figura 6 – Número mais provável (NMP) de coliformes totais e <i>E. coli</i> por 100 mL – teste Colilert®.....	37
Figura 7 – Fotografia do gel de agarose após eletroforese com o marcador de peso molecular, a cepa padrão de <i>Salmonella enterica</i> e as amostras ambientais.	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Sorotipos que tem propensão a infectar um hospedeiro em particular.....	20
Tabela 2 – <i>Primer forward e reverse</i> para síntese de DNA de <i>Salmonella enterica</i>	33
Tabela 3 – Índice de múltipla resistência aos antimicrobianos (MAR) nas cepas de <i>Salmonella enterica</i> isoladas.....	41

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Perfil de resistência bacteriano das cepas isoladas de <i>Salmonella enterica</i>	39
--	----

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	14
LISTA DE TABELAS.....	15
LISTA DE QUADROS	15
1 INTRODUÇÃO GERAL	13
2 OBJETIVOS	15
2.1 OBJETIVO GERAL.....	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3 REVISÃO DA LITERATURA	16
3.1 Gênero Salmonella	17
3.2 Sorotipos.....	19
3.3 Resistência a antimicrobianos	20
3.4 Múltipla resistência	22
3.5 Agentes antimicrobianos	22
3.5.1 Penicilinas, Cefalosporinas, Carbapenêmicos e Monobactâmicos.....	23
3.5.2 Fluoroquinolonas	24
3.5.3 Aminoglicosídeos.....	24
3.5.4 Glicopeptídeos e Lipopeptídeos.....	25
3.5.5 Macrolídeos e Lincosamidas.....	25
3.5.6 Estreptograminas.....	25
3.5.7 Tetraciclinas	26
3.5.8 Oxazolidinonas.....	26
4 MANUSCRITO - IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR E ANTIBIOGRAMA DE SALMONELLA ENTERICA ENCONTRADA EM MICROBACIA NO NOROESTE DO RIO GRANDE DO SUL	27
4.1 INTRODUÇÃO.....	27
4.2 METODOLOGIA.....	29
4.2.1 Seleção dos pontos de coleta	29
4.2.2 Coleta de amostras	30
4.2.3 Análise microbiológica das amostras de água.....	30
4.2.4 Identificação das cepas.....	32
4.2.5 Teste do Antibiograma	34

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
4.3.1 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA.....	35
4.3.2 Identificação molecular de Salmonella spp.....	38
4.3.3 Resultados do antibiograma	39
4.4 CONCLUSÃO.....	42
4.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	48
6 REFERÊNCIAS GERAIS	49
ANEXO A –	54

1 INTRODUÇÃO GERAL

A água é um recurso indispensável para a qualidade de vida e o bem-estar humano. Esse recurso têm uma importância inegável, pois é a base de outras práticas e medidas fundamentais, como por exemplo a saúde pública e o desenvolvimento das civilizações (SOUZA, 2014).

Para a espécie humana, os recursos hídricos desempenham um papel crucial na manutenção da higiene pessoal, nas funções corporais, na produção de alimentos e no desenvolvimento econômico. Porém, apesar de ser um recurso inesgotável e cobrir cerca de 70% da superfície do planeta, apenas uma pequena quantidade está disponível (CADORE, 2021). Nesse contexto, torna-se fundamental proteger este recurso, para garantir o acesso a água potável para todas as pessoas.

Estima-se que 2,2 bilhões de pessoas não têm acesso a serviços de água potável administrados com segurança (OPAS, 2019). Ainda, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS, 2022), aproximadamente 829.000 indivíduos por ano em nações com baixa e média renda perdem a vida devido à escassez de água, falta de saneamento e higiene adequada, destas fatalidades cerca de 60% do número total de óbitos são causados por diarreia.

Para manter a qualidade da água é de suma importância que haja saneamento básico, que por sua vez, diz respeito às condições de tratamento e disposição dos resíduos sólidos, líquidos e esgotos, bem como à promoção de boas práticas de higiene. A falta de saneamento básico adequado afeta a saúde pública, promovendo a transmissão de doenças pela água, como cólera, diarreia, febre tifoide e hepatite A (MENEZES, 2023). Estima-se que 4,2 bilhões de pessoas vivem sem acesso a saneamento básico, aumentando o risco de manifestação de doenças e comprometendo o desenvolvimento humano (ONU, 2020).

A garantia do acesso universal à água potável e ao saneamento básico é uma questão de direitos humanos e uma responsabilidade global. Investir nessas áreas é crucial para melhorar a qualidade de vida das pessoas, reduzir as desigualdades sociais e promover um futuro sustentável para as próximas gerações, onde não haja tantas doenças causadas por veiculação hídrica.

As infecções causadas por *Salmonella* spp. estão entre as principais doenças transmitidas por água e alimentos contaminados. De acordo com os dados disponíveis da OMS, estima-se que 9 milhões de pessoas adoecem de febre tifoide e 110.000 pessoas morrem no mundo todos os anos em decorrência desta enfermidade (OMS, 2019). A febre tifoide, é causada pela infecção por *Salmonella enterica* serovar Typhi, considerada um grande problema de saúde pública principalmente em países em desenvolvimento (LOU et al., 2019).

Salmonella compreende um gênero de bactérias gram-negativas que pertencem à família das Enterobacteriaceae sendo seu habitat o trato intestinal de animais, portanto, sua presença no meio ambiente se dá através da liberação de fezes contaminadas (BRASIL, 2011).

Segundo o Ministério da Saúde (BRASIL, 2011), *Salmonella* spp. tem uma alta resistência a vários fatores ambientais e no solo cultivado pode sobreviver por até 280 dias, além de apresentar um elevado percentual de resistência aos antimicrobianos, que era de 17% na década de 1970 e passou para 31% ao final dos anos 1980, incluindo-se a resistência às fluoroquinolonas.

A evolução de microrganismos com resistência a antimicrobianos é um fenômeno natural, onde o ambiente seleciona os organismos mais adaptados para a sobrevivência (NORBERG et al., 2022). Ainda, segundo Norberg et al. (2022), a resistência a antimicrobianos é definida como a capacidade de um microrganismo (bactérias, vírus, fungos, protozoários e helmintos) evitar a ação do agente antimicrobiano através de métodos que impeçam a ação dessas substâncias.

Sabendo-se da importância dos recursos hídricos, do descaso com as vias de contaminação e da aquisição de resistência dos microrganismos aos antimicrobianos, acredita-se na importância de estudos para identificar a presença desses patógenos no ambiente. Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo verificar a existência, isolar e identificar cepas de *Salmonella enterica* no Lajeado do Pardo, no noroeste do Rio Grande do Sul e testar sua resistência aos antimicrobianos mais utilizados.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

A presente investigação teve como objetivo determinar a presença, identificação molecular e perfil de sensibilidade do microrganismo *Salmonella* sp. a partir da água bruta da microbacia do Lajeado do Pardo.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- I – Realizar coletas de água bruta em cinco diferentes pontos da microbacia do Lajeado do Pardo.
- II. Avaliar a presença de *Salmonella* spp. na microbacia do Lajeado do Pardo, a partir de cultivo e isolamento da cepa através da metodologia ABNT NBR ISO 6579-1 modificada.
- III. Realizar a Identificação molecular de *Salmonella entérica* pela metodologia PCR.
- IV. Determinar o perfil de resistência microbiana das cepas ambientais de *Salmonella* spp. identificadas, pela técnica de antibiograma por difusão em disco a frentes aos antibióticos, AMP (ampicilina); CLO (clorofenicol); GEN (gentamicina); CIP (ciprofloxacina) e AMC (amoxicilina/ácido clavulânico).

3 REVISÃO DA LITERATURA

As microbacias que são utilizadas como fontes de água para irrigação de culturas e consumo humano, desempenha um papel importante na preservação da saúde pública e na proteção do ecossistema, o controle microbiológico de rios e mananciais, é essencial para a agricultura e para o abastecimento de comunidades, mas, esses recursos hídricos também podem conter microrganismos patogênicos, como *E. coli* e *Salmonella*. As redes estaduais de monitoramento da qualidade da água utilizam como indicador da poluição fecal, a *E. coli* e coliformes termotolerantes (ANA, 2019).

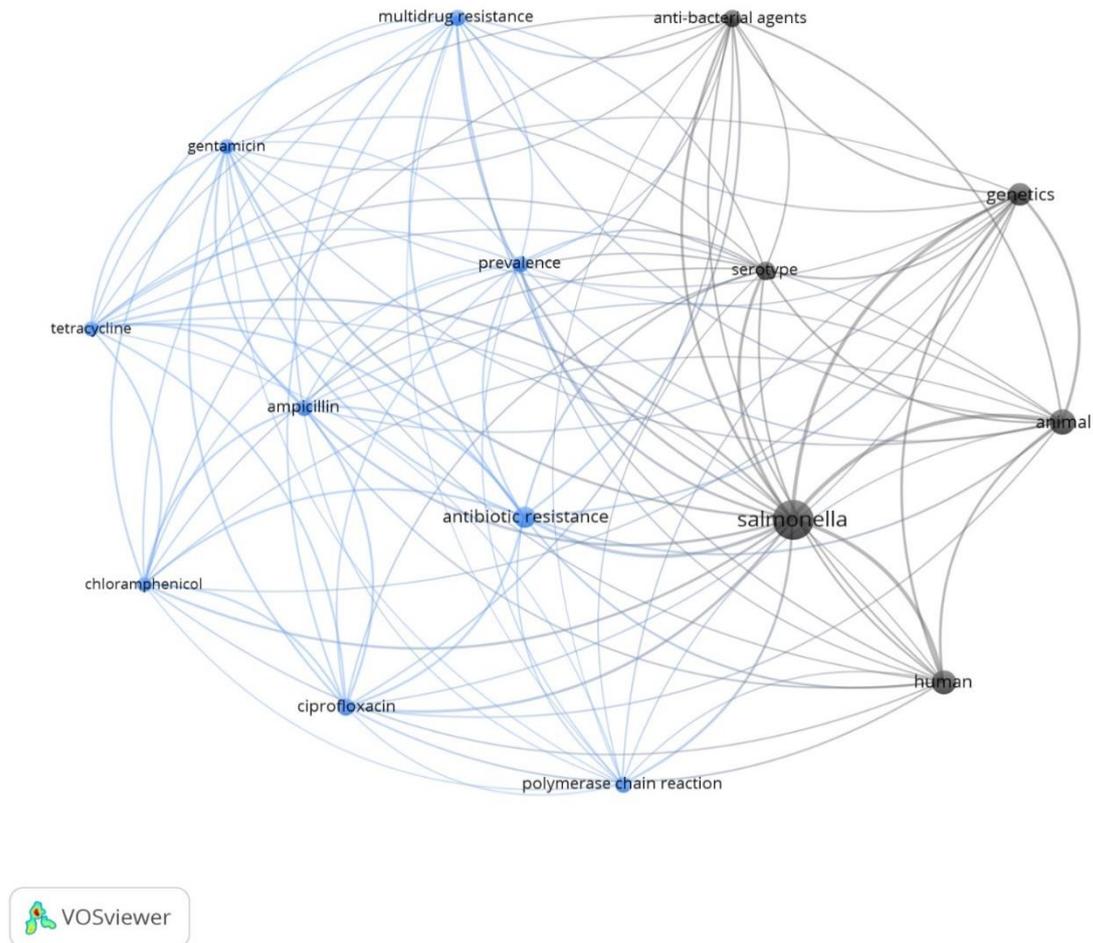
Para realizar o estudo sobre *Salmonella* utilizou-se o software VOSviewer, desenvolvido na Universidade de Leiden, na Holanda, o qual realiza análise de redes bibliométricas e gera visualizações de termos de co-ocorrência, é usado para analisar dados bibliográficos, como artigos científicos, e criar mapas visuais das relações entre palavras-chave, autores, instituições e outras entidades presentes na literatura científica (ARRUDA, 2022).

Com o VOSviewer (ECK; WALTMAN, 2018) foi construído um mapa de palavras-chave (ou termos) que mostram a frequência e a relação entre essas palavras em um conjunto de documentos científicos. O software utiliza algoritmos para agrupar, sendo que o termo de pesquisa utilizado foi *Salmonella* para se obter uma visualização dos termos mais citados atualmente sobre este patógeno.

As palavras mais citadas foram: resistência a antimicrobianos, Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), humanos, animal, genética, prevalência, sorotipo, agente antimicrobiano, múltipla resistência, ampicilina, ciprofloxacina, cloronfenicol, gentamicina e tetraciclina.

Essas palavras estão todas correlacionadas com o agente microbiológico estudado em questão, *Salmonella*, e a partir destes dados foi realizada uma revisão bibliográfica.

Figura 1- Mapa de palavras-chave (ou termos) relacionados com *Salmonella* spp.



Fonte: Autor (2023).

3.1 GÊNERO SALMONELLA

A designação do gênero *Salmonella* foi adotada em 1900 por Lignières em homenagem a Daniel Salmon, que isolou uma cepa de bactéria conhecida como *Salmonella enterica* sorovar Choleraesuis de suínos, a partir de 1920, um grupo de microbiologistas liderados por Fritz Kauffmann em Copenhague e por Philip Bruce White em Londres unificou a taxonomia das Salmonellas, ficando conhecido como esquema de Kauffmann-White e foi reconhecido pelo subcomitê de *Salmonella* da Sociedade Internacional de Microbiologia em 1933 (BRASIL, 2011). Esse esquema foi construído de acordo com antígenos presentes nas superfícies dessas bactérias (GRIMONT et al., 2000).

O gênero *Salmonella* faz parte da família Enterobacteriaceae e possui uma morfologia característica de bastonetes Gram-negativos não esporulada que pode crescer em uma faixa de

temperatura entre 5 a 46 °C (AMAGLIANI, 2012). Segundo Silva (2019) a temperatura ideal para este microrganismo é de 35 °C, mas, ele é capaz de resistir à dessecação e ao congelamento, e sobreviver por meses ou anos. Geralmente, são móveis e têm a capacidade de produzir ácido e gás, a partir da fermentação, no entanto, há algumas exceções, como *S. Typhi*, *S. Pullorum* e *S. Gallinarum*, que produzem gás em menos de 5% dos casos (BRASIL, 2011).

Esses microrganismos, de forma geral, entram no organismo através da via oral e invadem a mucosa intestinal, onde se multiplicam, em algumas situações, podem atravessar a mucosa intestinal por meio das células M, alcançando os sistemas linfático e circulatório, espalhando-se para diversos órgãos, esse processo invasivo é causado por sorotipos tifoídes e também por *S. enterica* não-tifoídal invasiva (NTSi) (BRASIL, 2011).

O gênero *Salmonella* é dividido atualmente em duas espécies: *Salmonella enterica* e *Salmonella bongori*. *Salmonella enterica* é dividida em cinco subespécies: a subespécie I (*enterica*), subespécie II (*salamae*), subespécie IIIa (*arizonae*), subespécie IIIb (*diarizonae*), subespécie IV (*houtenae*) e a subespécie V (*indica*) (SANTOS, 2020). Esta espécie é considerada a mais patogênica e inclui mais de 2.600 sorotipos (JAJERE, 2019).

Já *Salmonella bongori* é conhecida por infectar, principalmente, hospedeiros de sangue frio, no entanto, também existem relatos de infecções em hospedeiros de sangue quente, uma hipótese plausível é que *S. bongori* tenha se divergido em linhagens filogenéticas distintas, algumas delas adquirindo a capacidade de infectar hospedeiros de sangue quente (WANG, 2019).

Entretanto, em se tratando de doenças humanas, *Salmonella* é classificada em dois grupos principais: os sorotipos tifoídes e os milhares de sorotipos não tifoídes de *Salmonella* (NTS) (COUTINHO, 2022).

De acordo com Arshad (2021), bactérias da espécie *Salmonella enterica* são a causa mais comum de infecções sanguíneas humanas em países com renda média e baixa, entre elas, o sorotipo Typhi, um patógeno restrito aos humanos e responsável por uma doença febril sistêmica conhecida como "febre entérica" ou "tifoide". As infecções tifoide e paratifoide causam especialmente doenças febris bacterêmicas, com febre alta prolongada, dor de cabeça e mal-estar, podendo levar ao óbito quando não tratadas (STANAWAY, 2019).

Stanaway (2019) em seu estudo realizado a partir de dados do GBD (Estudo Global de Carga de Doenças, Lesões e Fatores de Risco, 2017) atestou que, globalmente, ocorreram 14,3 milhões de casos de febre tifoide e paratifoide no ano 2017 (intervalo de incerteza de 95%: 12,5 - 16,3), sendo que *Salmonella enterica* sorotipo Typhi causou 76,3% dos casos de febre entérica, com estimativas de 135,9 mil mortes por febre tifoide e paratifoide globalmente no ano de 2017.

As gastroenterites, causadas por salmonelose não tifoide (NTS) podem ser classificadas como infecções entéricas causadas por outras salmonelas, sendo mais comuns os sorotipos Enteritidis, Typhimurium e Newport (BERNARDES, 2018).

No Manual Técnico de Diagnóstico Laboratorial de *Salmonella* spp. fornecido pelo Ministério da Saúde (2011), nas NTS os sintomas da infecção são: diarreia, vômitos, febre moderada, dor abdominal, mal-estar geral, cansaço, perda de apetite e calafrios. Esses sintomas surgem geralmente em um período que varia entre 6 e 72 horas após contaminação, sendo mais comum surgirem entre 12 e 36 horas, na maioria dos casos persistindo de 2 a 7 dias. A intensidade dos sintomas pode variar de acordo com a quantidade de alimento contaminado ingerido e o nível de contaminação presente no alimento (BRASIL, 2011).

De acordo com Santos (2020), no Brasil, *Salmonella* spp. é o segundo maior agente causador de doenças transmitidas por alimentos (DTAs), sendo a espécie entérica responsável pela maioria dos casos em que os seres humanos são afetados através do consumo de água e alimentos contaminados.

No caso dos ovos e do leite a contaminação ocorre frequentemente através da exposição à água contaminada por fezes; já nos produtos carneos, a contaminação ocorre principalmente por meio de exposição direta, durante as operações de abate (BRASIL, 2011).

3.2 SOROTIPOS

Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2022) a espécie *Salmonella enterica*, subespécie *enterica* é a salmonela de maior importância em saúde animal e humana e abarca os sorotipos de *Salmonella* Gallinarum (biovars Gallinarum e Pullorum) e ainda Enteritidis e Typhimurium. Dentre estes os principais sorotipos que impactam a saúde pública é *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium.

Os sorotipos de *Salmonella* não tifoide (NTS), como Typhimurium e Enteritidis, são considerados patógenos generalistas com ampla especificidade de hospedeiro, alguns sorovares de *S. enterica* mostram uma alta adaptação ao hospedeiro humano, usando-o como seu reservatório exclusivo, esses patógenos especialistas são coletivamente referidos como sorotipos de *Salmonella* tifoide e incluem os sorovares Typhi, Sendai e Paratyphi A, B ou C, eles são os agentes responsáveis pela febre entérica, conhecida como febre tifoide ou paratifoide, são causadas pelos sorovares Typhi ou Paratyphi, respectivamente (GAL-MOR et al., 2014).

A maioria dos mais 2600 sorotipos de *Salmonella* não apresenta uma preferência específica pelo hospedeiro, podendo ser encontrados em diversas espécies. No entanto, alguns poucos sorotipos demonstram uma propensão em infectar um hospedeiro em particular.

Tabela 1 - Sorotipos que tem propensão a infectar um hospedeiro em particular

Sorotipos	Principal hospedeiro	Referência
<i>S. Typhi</i>	Humanos	Gal-Mor et al., (2014); MAPA (2022)
<i>S. Paratyphi A</i>	Humanos	Gal-Mor et al., (2014); MAPA (2022)
<i>S. Abortusovis</i>	Ovinos	AMAGLIANI et al., (2021)
<i>S. Abortusequi</i>	Equinos	BUSTO et al., (2020)
<i>S. Dublin</i>	Bovinos	CAMPIONI et al., (2022)
<i>S. Choleraesuis</i>	Suínos	VILELA et al., (2022)
<i>S. Gallinarum</i>	Aves	MAPA (2022)
<i>S. Pullorum</i>	Aves	MAPA (2022)

3.3 RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS

Geralmente a terapia antimicrobiana é a primeira opção de tratamento para essa infecção bacteriana, no entanto nas últimas décadas, a resistência antimicrobiana (RAM) emergiu como um problema significativo, devido ao uso inadequado de antibióticos tanto na prática médica humana quanto na criação de animais. Estima-se que até 2050, patógenos resistentes a antibióticos poderão causar aproximadamente 10 milhões de mortes em todo o mundo, o que levou a Organização Mundial da Saúde (OMS) a enfatizar a necessidade de entrar na era pós-antibióticos (VARGAS et al., 2020).

A resistência antimicrobiana é um fenômeno global que representa uma das maiores ameaças à saúde pública do século XXI. Segundo Freire et al. (2022), os antibióticos são uma verdadeira revolução no tratamento de doenças infecciosas causadas por bactérias, contribuindo para a redução das taxas globais de morbidade e mortalidade associadas a essas infecções. No entanto, o uso inadequado desses medicamentos acelera o desenvolvimento natural de resistência bacteriana. Isso acontece porque, no ambiente natural, os micróbios resistentes trataram esses antimicrobianos como uma forma de competição por recursos nutricionais e espaço dentro do micro-habitat que ocupam.

A resistência bacteriana aos antibióticos é influenciada pela expressão de genes de resistência, que podem agir de forma individual ou em conjunto, afetando a interrupção de resistência, estruturas ou processos bioquímicos que levam à falha no mecanismo de ação do antibiótico (ANDRADE et al., 2018).

Segundo Andrade et al. (2018) e Lima et al. (2017), pode-se classificar em duas formas a aquisição de proteção da bactéria contra a ação antimicrobiana:

1. Resistência intrínseca (inerente), é resistência natural que são próprios de um determinado gênero ou espécie bacteriana.
2. A resistência adquirida, por outro lado, refere-se aquela originada a partir de mutações nos próprios genes das bactérias ou através da aquisição de genes de resistência provenientes de outras bactérias. Isso pode ocorrer por meio de diferentes controles:
 - a) Conjugação, é um processo que requer o contato físico entre duas bactérias, sendo que uma delas atua como doadora, transferindo material genético para uma bactéria receptora por meio de uma estrutura conhecida como fímbria ou pilus sexual. Os plasmídeos são transferidos através dessas estruturas e neles podem se encontrar os genes de resistência.
 - b) Transdução, na qual bacteriófagos carregam genes de resistência entre as bactérias,
 - c) Transformação, na qual as bactérias capturam e incorporam fragmentos de DNA contendo genes de resistência presentes no ambiente,
 - d) Transposição, é um processo em que uma bactéria requer pequenos segmentos de DNA conhecidos como transposons, que contêm genes de resistência para antibióticos, mas não têm a capacidade de se replicar por si mesmos. Para a sua replicação, os transposons vivem de replicons, que são regiões de DNA com a capacidade de se duplicarem de forma independente.

Já os mecanismos de resistência bacteriana foram divididos de acordo com a forma de inativação do antibiótico: sistemas de efluxo hiperexpressos; produção de enzimas que degradam ou modificam antibióticos; alteração do sítio alvo (de ligação) do antibiótico; redução da permeabilidade da membrana externa; bloqueio ou proteção do sítio alvo do antibiótico (ANDRADE, et al. 2018). Embora sejam poucos mecanismos, eles são expressados por milhares de genes e proteínas que conferem resistência às bactérias (TORTORA et al., 2019).

De acordo com Colaboradores da Resistência Antimicrobiana (2022), a resistência antimicrobiana em bactérias foi responsável por aproximadamente 1,27 milhão de mortes em

2019 em nível global. Estima-se que no ano de 2050, 10 milhões de pessoas poderão morrer por ano devido às doenças resistentes a medicamentos em todo o mundo (ONU, 2019).

Em maio de 2015, na 68ª Assembleia Mundial da Saúde, foi endossado um plano de ação global para enfrentar o crescente problema da resistência a antibióticos e outros medicamentos antimicrobianos no qual o objetivo principal é promover a conscientização e a compreensão da RAM por meio de comunicação, educação e treinamento eficazes (OMS, 2022).

A resistência antimicrobiana de *Salmonella enterica* é uma característica inerente que tem sido cada vez mais frequente, e sua prevalência é crescente em cepas multirresistentes a antimicrobianos (OLIVEIRA, 2019). Essa tendência é motivo de grande preocupação para os sistemas de vigilância em saúde.

A Organização Mundial da Saúde anunciou uma lista de bactérias que são resistentes a antibióticos e que, segundo a agência da ONU, devem ser consideradas como prioridade nas pesquisas por novos medicamentos contra micróbios. O gênero *Salmonella* está classificado como prioridade 2, ou seja, de alta importância devido a sua resistência às fluoroquinolonas (ONU, 2017).

3.4 MÚLTIPLA RESISTÊNCIA

A resistência a múltiplas drogas (MDR) é um termo utilizado para descrever a capacidade de um microrganismo, resistir a múltiplas drogas, ou seja, quando diferentes classes de medicamentos destinados a combater esses microrganismos (KHAN et al., 2015).

O índice de múltipla resistência aos antimicrobianos (MAR) é determinado e interpretado conforme método proposto por Krumperman (1983). O cálculo do índice é realizado através da fórmula: a/b , onde 'a' representa o número de antibióticos aos quais um determinado isolado apresentou resistência, e 'b' representa o número total de antibióticos testados.

Segundo Shu-kee et al. (2015) os estudos epidemiológicos apontam que os sorotipos de *Salmonella* MDR tem maior virulência do que as cepas suscetíveis, pois eles demonstram maior gravidade nos sintomas e doença mais prolongada em pacientes infectados por cepas MDR.

3.5 AGENTES ANTIMICROBIANOS

Os antimicrobianos são compostos naturais, como os antibióticos, ou substâncias sintéticas, como os quimioterápicos, que atuam contra microrganismos inibindo seu crescimento ou promovendo sua destruição (MOTA et al., 2010).

Os antibacterianos podem ser classificados de acordo com a planilha de pontos de corte do Comitê Brasileiro de Testes de Sensibilidade aos Antimicrobianos - BrCAST (2023): Penicilinas, Cefalosporinas, Carbapenêmicos, Monobactâmicos, Fluoroquinolonas, Aminoglicosídeos, Glicopeptídeos, Lipopeptídeos, Macrolídeos, Lincosamidas, Estreptograminas, Tetraciclina e Oxazolidinonas.

3.5.1 Penicilinas, Cefalosporinas, Carbapenêmicos e Monobactâmicos

As penicilinas são um grupo de antibióticos que pertencem à classe dos beta-lactâmicos, foram os primeiros antibióticos descobertos e continuam sendo amplamente utilizados na medicina atual para tratar diversas infecções bacterianas (CALVO et al., 2009). A ação das penicilinas se baseia na interferência a síntese da parede celular bacteriana, e, portanto, enfraquecem e destroem a estrutura da parede celular bacteriana, o que leva à morte da bactéria (CALVO et al., 2009; DE ARRUDA et al., 2019).

Segundo Arruda et al. (2019) podemos classificar as penicilinas como:

- Benzilpenicilinas: como a Penicilina G cristalina e a Penicilina V como exemplos.
- Aminopenicilinas: tem-se como exemplos a Amoxicilina e Ampicilina.
- Penicilinas resistente as beta-lactamases: exemplos como Meticilina e Oxacilina.

As cefalosporinas também pertencem à classe dos beta-lactâmicos, assim como as penicilinas, sendo que foram descobertas em 1940 a partir de cepas do fungo *Cephalosporium* (GUERREIRO, 2018). As cefalosporinas também interferem na síntese da parede celular bacteriana, o que leva à morte das bactérias sensíveis a elas, no entanto, as cefalosporinas têm algumas características distintas que as tornam uma opção importante no tratamento de bactérias resistentes (DE ARRUDA et al., 2019; GUERREIRO, 2018).

De acordo com Arruda et al. (2019) as cefalosporina são classificadas de acordo com o espectro de ação em cinco gerações:

- 1º Geração, exemplos: Cefalotina, Cefazolina, Cefalexina e Cefatrizina;
- 2º Geração, exemplos: Cefamandol, Cefaclor, Cefonicida, Cefoxitina e Cefotetan;
- 3º Geração, exemplos: Cefotaxima, Cefsulodina e Cefixima;
- 4º Geração, exemplos: Cefepime e Cefpiroma;

- 5º Geração, exemplos: Ceftaroline e Ceftobiprole.

Os carbapenêmicos são um grupo de antibióticos beta-lactâmicos de amplo espectro, conhecidos por sua eficácia contra uma ampla variedade de bactérias, incluindo bactérias resistentes a outras classes de antibióticos, como as cefalosporinas e penicilinas (DE ARRUDA et al., 2019). Esse grupo de antibióticos, entre eles o Imipenem, Meropenem, Ertapenem, Doripenem têm como mecanismo de ação a alteração da membrana citoplasmática (CALVO et al., 2009; DE ARRUDA et al., 2019; GUERREIRO, 2018;)

Os monobactâmicos são fármacos com um anel beta-lactâmico monocíclico possuem um espectro de atividade restrito, limitando-se a bastonetes Gram-negativos aeróbios, não apresentando nenhuma atividade contra bactérias Gram-positivas, um exemplo desse fármaco o Aztreonam (DE ARRUDA et al., 2019)

3.5.2 Fluoroquinolonas

De acordo com Da Silva et al. (2020), as fluoroquinolonas são uma classe de antibióticos sintéticos de amplo espectro usados para tratar uma ampla variedade de infecções bacterianas. As quinolonas apareceram, acidentalmente, como produto secundário da síntese de um agente antimalárico, a cloroquina. Já na década de 1980, após estudos realizados a partir das primeiras quinolonas, surgiu as denominadas quinolonas de segunda geração, as fluoroquinolonas (APPELBAUM et al., 2000). As fluoroquinolonas funcionam inibindo a atividade das enzimas bacterianas responsáveis pela replicação do DNA e pela manutenção da parede celular bacteriana, levando à morte da bactéria (APPELBAUM et al. 2000; DA SILVA et al., 2020).

Algumas fluoroquinolonas incluem: Ciprofloxacina, Levofloxacina, Moxifloxacino, Ofloxacina e Norfloxacina (BrCAST, 2023).

3.5.3 Aminoglicosídeos

Os aminoglicosídeos são uma classe de antibióticos que são eficazes contra uma ampla gama de bactérias Gram-negativas aeróbias, sendo utilizados para tratar infecções graves causadas por bactérias resistentes a outros tipos de antibióticos, sua absorção no trato gastrointestinal é muito ineficaz por isso aconselha-se a administração por via parenteral para o tratamento de infecções sistêmicas (DE FARIA et al., 2022). Os aminoglicosídeos funcionam inibindo a

síntese de proteínas bacterianas, levando à morte das bactérias entre eles podemos encontrar: Gentamicina, Tobramicina e Amicacina (ROCHA, 2021).

3.5.4 Glicopeptídeos e Lipopeptídeos

Os glicopeptídeos são uma classe de antibióticos usados para tratar certas infecções bacterianas, causadas principalmente por bactérias Gram-positivas, todos os glicopeptídeos, têm um mecanismo de ação igual, sendo ativos contra bactérias em crescimento por inibição da biossíntese do peptidoglicano e tendo como resultado, geralmente a morte das bactérias; um exemplo dessa classe de antibióticos é a Vancomicina (FREITAS, 2022).

O antibiótico lipopeptídeo aprovado para uso clínico é a Daptomicina, e seu mecanismo de ação atua inserindo sua cauda lipídica na membrana celular bacteriana, causando despolarização e levando ao vazamento de íons intracelulares, matando a bactéria, esse antibiótico tem um espectro de atividade relativamente estreito, principalmente eficaz contra bactérias Gram-positivas, não sendo eficaz contra bactérias Gram-negativas (FREITAS, 2022).

3.5.5 Macrolídeos e Lincosamidas

Os macrolídeos são uma classe de antibióticos conhecidos por sua atividade de amplo espectro contra várias infecções bacterianas e eles funcionam inibindo a síntese de proteínas bacterianas, o que acaba causando a morte das bactérias, eles são eficazes contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e são comumente usados para tratar infecções do trato respiratório alguns exemplos são: Eritromicina, Claritromicina e Azitromicina (VELOSO, 2021).

As lincosamidas têm características antibacterianas idênticas aos macrolídeos e atuam pelo mesmo mecanismo de ação. Elas foram isoladas do micro-organismo de solo *Streptomyces lincolnensis* e um exemplo deste fármaco é a Clindamicina (GUIMARÃES et al., 2010).

3.5.6 Estreptograminas

As estreptograminas são uma classe de antibióticos usados para tratar certas infecções, principalmente causadas por bactérias Gram-positivas e são comumente combinadas para criar um efeito sinérgico, o antibiótico de estreptogramina mais notável é a combinação de Quinupristina-Dalfopristina, que funciona inibindo a síntese de proteínas bacterianas, visando o

ribossomo bacteriano e interrompendo a formação de novas cadeias peptídicas, levando à morte celular bacteriana (GUIMARÃES et al., 2010).

3.5.7 Tetraciclinas

As tetraciclinas são uma classe de antibióticos frequentemente usados para tratar diversas infecções bacterianas incluindo Gram-positivas e Gram-negativas, esses medicamentos agem inibindo a síntese de proteínas nas bactérias, levando à morte dos microrganismos, seu uso em crianças e gestantes não é recomendado, pois podem afetar o desenvolvimento dos dentes e ossos do feto ou da criança pequena, causando descoloração permanente dos dentes e problemas esqueléticos (GUIMARÃES et al., 2010; PEREIRA-MAIA et al., 2010).

Alguns exemplos de tetraciclinas incluem Tetraciclina, Doxiciclina, Minociclina e Demeclociclina (BrCAST, 2023).

3.5.8 Oxazolidinonas

As oxazolidinonas são uma classe de antibióticos utilizados principalmente contra bactérias Gram-positivas multi-resistentes, incluindo bactérias resistentes a outros antibióticos, a Linezolida é um representante desta classe e seu mecanismo de ação é por inibir a síntese de proteínas bacterianas, interferindo no início da tradução do RNA em ribossomos bacterianos 50S, essa ação impede o desenvolvimento de proteínas essenciais para o crescimento e sobrevivência das bactérias (GONÇALVES et al., 2019; GUIMARÃES et al., 2010).

4 MANUSCRITO - IDENTIFICAÇÃO DE CEPAS DE *SALMONELLA ENTERICA* RESISTENTE A ANTIMICROBIANOS RECUPERADAS EM AMOSTRAS DE ÁGUA SUPERFICIAL DE UMA MICROBACIA NO NOROESTE DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL

4.1 INTRODUÇÃO

Salmonella enterica é uma bactéria em forma de bacilo Gram-negativo, medindo de 1 a 2 µm, que faz parte da família das *Enterobacteriaceae* e está relacionada com doenças de origem alimentar (CARNEIRO et al., 2020). O gênero *Salmonella* é conhecido por causar salmonelose, uma doença classificada como zoonose, pois o habitat natural desses microrganismos é o sistema gastrointestinal de diversos animais, tanto de sangue quente quanto de sangue frio (DA SILVA, 2019). Pode-se considerar *Salmonella* um microrganismo gênero bacteriano cosmopolita, pois atinge todos os grupos populacionais, tanto em países desenvolvidos como em desenvolvimento, tornando-se um problema de saúde pública mundial (JAIMES-BERNAL et al., 2023) e, reconhecidamente, como causa primária de vários surtos de doenças de origem alimentar no mundo (BRASIL, 2022).

As Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA's) são provocadas pela ingestão de alimentos ou água contaminada por microrganismos ou por toxinas produzidas por estes, gerando intoxicações e infecções que podem ser agudas (quando provocam sintomas imediatos) e crônicas ao longo do tempo (FERREIRA, 2021). A Salmonelose frequentemente resulta de fontes alimentares ou animais, embora casos também possam ser desencadeados pela ingestão de água de superfície. Mesmo com avançadas tecnologias de tratamento de água, essa ainda pode ser uma fonte persistente de surtos de doenças (LEVANTESI et al., 2012), tornando a prevenção e o controle dessas doenças um grande desafio há alguns anos (LAHIRI et al., 2010).

Na salmonelose, os sintomas mais comuns em seres humanos são diarreia, febre e cólicas abdominais, com início entre 6 a 72 horas após a ingestão de alimentos contaminados (CDC, 2010). Porém, Castro et al. (2020), salientam que o sintoma da doença depende da imunidade do hospedeiro, sorotipo envolvido, dose de infectante e fatores de virulência.

Segundo o 32º boletim epidemiológico da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde do Brasil de agosto de 2020, no período de janeiro de 2007 a dezembro de 2015, foram um total de 6.526 surtos de doenças transmitidas por alimentos ou água no Brasil e apenas 2.243 dos surtos tiveram o agente etiológico identificado, sendo causados principalmente por *Salmonella* (25,17%), *E. coli* (23,42%) e *Staphylococcus* (18,61%).

Naturalmente, todos os organismos vivos estão expostos à constante evolução e seleção do ambiente, e com as cepas de *Salmonella enterica*, não é diferente. Esse microrganismo além de desenvolver uma excelente adaptação a diferentes ambientes, demonstra resistência a alguns antibacterianos existentes (PAGANINI, 2022). As bactérias têm uma variedade de elementos genéticos que transportam genes de resistência dispersos por todo o reino bacteriano, bem como o dispositivo essencial para a recombinação desses genes (BENNETT, 1999).

Quando o microrganismo consegue interromper a ação de determinado agente antimicrobiano sobre ele, resulta em tratamentos ineficazes, tornando-o persistentes, aumentando o risco de disseminação de doenças graves e morte devido a resistência aos antibióticos, sendo que essas características de ação contra os antibióticos transmitidas para as futuras cepas desses microrganismos (OMS, 2021). Segundo Ortega et al. (2017), o uso indiscriminado de substâncias na medicina veterinária e humana vem sendo frequentemente relacionado à crescente resistência dos microrganismos.

Além de sua importância como agente patogênico, *Salmonella* sp. é também um organismo importante para a pesquisa em biologia molecular, microbiologia e imunologia. Atualmente, existem várias técnicas para a identificação dos patógenos responsáveis por provocar os surtos gastrointestinais sendo eletroforese em gel de campo pulsado (PFGE) considerada o "padrão-ouro" para a tipagem molecular de *Salmonella*, mas é uma técnica demorada e trabalhosa (HASSENA et al., 2022).

No entanto, Hassana et al. (2022) salientam que a técnica de PCR está sendo empregada com sucesso para a identificação de cepas de *Salmonella*, já que é uma técnica mais fácil e simples baseada em amplificações de DNA de alvos específicos. Segundo Rubio (2017), esta técnica estabelece um diagnóstico rápido e confiável de diferentes patógenos, incluindo aqueles de difícil diagnóstico. Para Jaimes-Bernal (2023), as técnicas moleculares atualmente superam as limitações das técnicas tradicionais e sorológicas para a correta detecção de patógenos.

Diante da importância de *Salmonella enterica* para a saúde pública, e sabendo que no Brasil não existem regulamentações e diretrizes gerais relacionadas à qualidade da água potável que mencionem especificamente este patógeno; apenas a Portaria GM/MS nº 888, de 4 de maio de 2021 inclui a presença de coliformes totais e termotolerantes.

O presente trabalho teve como objetivo identificar cepas de *Salmonella enterica* resistente a antimicrobianos recuperadas em amostras de água superficial de uma microbacia agrícola no noroeste do Rio Grande do Sul, Brasil

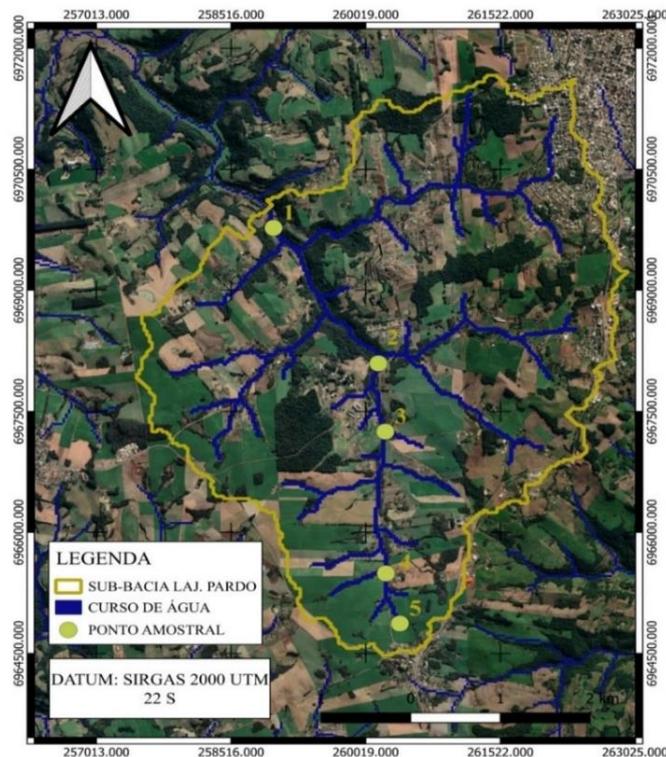
4.2 METODOLOGIA

O trabalho de pesquisa foi realizado entre os anos de 2021 e 2023 e desenvolvido no Laboratório de Análise de Águas da Universidade Federal de Santa Maria - campus Frederico Westphalen.

4.2.1 Seleção dos pontos de coleta

A microbacia do Lajeado Pardo possui uma extensão de 5.700 m, tendo sua nascente nas coordenadas - latitude: $27^{\circ} 25' 43''$ S e longitude: $53^{\circ} 43' 25''$ W, e uma altitude média de 488 m. O método de coleta foi de forma linear ao longo da extensão dos 5.700 m do curso do Lajeado Pardo, em quatro setores (pontos 1, 2, 3 e 4), mais a nascente (ponto 5) como podemos observar na (Figura 2). Em cada setor foram coletadas três amostras, mais uma amostra em triplicata bem próxima à nascente totalizando assim 5 pontos de coleta. Os 4 setores foram previamente definidos através de um estudo realizado por Volpi et al. (2021, *no prelo*) e representam pontos amostrais homogêneos ao longo do lajeado.

Figura 2- Mapa identificando os pontos de coletas realizadas ao longo do Lajeado do Pardo.



Fonte: Autor (2023).

4.2.2 Coleta de amostras

A coleta das amostras foi realizada no dia 13 de dezembro de 2021 no sentido jusante a montante do curso do rio (contra fluxo) para evitar alterações nos parâmetros analisados que poderiam sofrer interferência pelo pisoteio das margens.

As amostragens de água nos diferentes pontos foram do tipo manual e próximo à superfície (Figura 3A), em razão da pouca profundidade do manancial, sendo que as mesmas foram coletadas em frascos estéreis com capacidade de 1000 mL (Figura 3B).

Figura 3 – Amostragem da água: A) forma de coleta de água, (B) frascos com amostras coletadas.



Fonte: Autor (2023)

4.2.3 Análise microbiológica das amostras de água

4.2.3.1 Detecção e quantificação simultânea coliformes totais e *Escherichia coli*

Após coletadas, as amostras de água foram submetidas à detecção de coliformes totais e *E. coli*, utilizando o método Colilert®, padrão para água e esgoto no Brasil (BRASIL, 2013), método validado pelo *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater* (SMEWW) (AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION-APHA, 2012). Para analisar os dados dos poços pequenos e poços grandes positivos e gerar o NMP (Número Mais Provável) no sistema Quanti-Tray/2000, utilizou-se o *software* gratuito IDEXX Water NMP Generator®, fornecido pelo laboratório da IDEXX. Ao inserir os valores dos poços pequenos e

grandes positivos, o *software* fornece automaticamente o NMP de coliformes totais e de *E. coli*, para cada amostra.

4.2.3.2 Isolamento de *Salmonella enterica*

Para isolar cepas de *Salmonella enterica*, as três amostras de cada setor foram homogeneizadas, resultando em uma amostra por setor, além de uma da nascente, totalizando cinco amostras. Para realizar o isolamento, utilizou-se a metodologia da ABNT NBR ISO 6579-1 (2007) modificada, descrita no Manual Técnico de Diagnostico Laboratorial de *Salmonella* spp. do Ministério da Saúde.

Primeiramente, realizou-se um pré-enriquecimento de 25 mL da amostra, adicionando 225 mL de meio Água Peptonada Tamponada incubados a 35 °C durante 24 horas. Posteriormente, 0,1 mL do cultivo acrescido de 10 mL de Caldo Rappaport Vassiliadis modificado (RV) a 42 °C por 24 h, sendo transferido novamente a amostra para placas de ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD) através do método de esgotamento com a alça de platina e as placas encubadas mais 24 horas em uma temperatura de 35 °C. As colônias características de *Salmonella enterica* foram retiradas e semeadas novamente em ágar *Salmonella-Shigella* (SS). Segundo Azevedo (2020) as colônias de *Salmonella* spp. no ágar XLD são vermelhas transparentes, com ou sem centro negro brilhoso, ou totalmente negras e brilhosas como observado na (Figura 4).

Durante todas as etapas do processo utilizou-se como controle negativo água esterelizada e controle positivo cepa de *Salmonella enterica* (ANEXO A), cepa doada pelo Laboratório de Microrganismos de Referência do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS), da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ).

Apartir deste ponto do trabalho a cepa 1 corresponderá a setor 1, a cepa 2 ao setor 2 e assim sucessivamente.

Figura 4 - Colônias características de *Salmonella* spp. em XLD.



Fonte: Autor 2023.

4.2.3.3 Armazenamento das amostras de bactérias.

As bactérias isoladas foram armazenadas em freezer (-20 °C) em uma solução de caldo de infusão de cérebro e coração (BHI) 80% e 20% de glicerol (KOUADIO-NGBESSO et al., 2019) para posteriormente realização da identificação molecular.

4.2.4 Identificação das cepas

A identificação das cepas ocorreu através da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) com a utilização do *primer* utilizado e validado por Barmak et al. (2021), como mostrado na Tabela 2.

Tabela 2 – *Primer forward e reverse* para síntese de DNA de *Salmonella enterica*.

Type	Primer	Sequência	Tamanho do produto da PCR (pb)
<i>Salmonella enterica</i>	SE Inv-1F	GTGAAATTATCGCCACGTT- CGG	500
	SE Inv-1R	ATCGCCATTTACGCGGGTCA	

Fonte: BARMAK et al. (2021).

4.2.4.1 Tampão de corrida da amostra

A solução de TBE foi preparada com 108 g de Trisamino (Hidroximetil) Aminometano, 55 g de ácido bórico e 7,5 g de ácido etilenodiaminotetracético tetrassódico (EDTA), completando-se o volume até 1000 mL com água desionizada em um balão volumétrico. O pH não precisou ser ajustado, mantendo-se em 8,0 após o preparo.

Considerando o tamanho do fragmento a ser amplificado, o gel de agarose foi preparado com uma concentração de 0,8%, levando em consideração as observações de Serwer (1983), que realizou um estudo sobre diferentes concentrações de géis e resolução dos fragmentos.

4.2.4.2 Pré-Mix para PCR

O Pré-Mix usado na reação é formado por todos os reagentes básicos para a reação de PCR: tampão de reação (Tris Hidroximetil Aminometano e KCl), pH 8,4, concentração de 2,0 mM de MgCl₂, 0,2 mM dNTP e 2,5 U de Taq DNA Polimerase (Sigma Alderich) recombinante.

4.2.4.3 Preparo e diluição dos oligonucleotídeos – *primers*

Para a utilização dos *primers* formulou-se uma solução estoque que foi diluída em 10 vezes multiplicada pela quantidade de *primer* em cada amostra. Para a solução de trabalho, foram retirados 10 µL da solução estoque e a esta quantidade foram acrescentados mais 100 µL de água ultrapura. Desta forma, a concentração final da solução de trabalho ficou de 1 pmol/µL.

4.2.4.4 Quantificação dos reagentes para amplificação

Utilizando um microtubo de 200 µL (livre de DNase e RNase) para cada reação foram adicionados neste: 12,5 µL de Pré-Mix, 2,5 µL de cada *primer* (*forward* e *reverse*), 6,5 µL de água ultrapura e 1 µL de DNA molde em uma concentração aproximada de 5 ng, quantificados em espectrofotômetro UV, em comprimento de onda de 260 nm.

4.2.4.5 Extração de DNA e amplificação em termociclador

O DNA material genético bacteriano obteve-se através do método de fervura simples conforme Bierhals et. al. (2020), que descreve a metodologia e a considera simples, rápida, de baixo custo e eficaz.

Neste experimento específico, utilizou-se termociclador (TECHNE, TC – 512) e o melhor ajuste encontrado para a reação foi de 1 ciclo inicial de desnaturação a 95 °C por 5 minutos, posteriormente 40 ciclos de três etapas: desnaturação (94 °C por 30 segundos), anelamento (55 °C por 30 segundos) e extensão (72 °C por 2,5 minutos). Para finalizar, foi programado mais 1 ciclo a 72 °C por 5 minutos de extensão no término da reação, segundo as especificações do fabricante dos oligonucleotídeos e reagentes.

4.2.4.6 Eletroforese

Para realizar a corrida no gel de agarose os parâmetros de eletroforese foram adaptados de acordo com sugestões já encontradas na literatura. A cuba utilizada possui 10 cm de distância entre os eletrodos e considerando um valor de aproximadamente 10 V/cm entre eles, foram testadas diferentes voltagens entre 60 a 100 V, obtendo-se uma melhor resolução quando utilizado 70 V por um tempo de 60 minutos. As leituras das amostras foram feitas utilizando o UV (Kasvi K33 – 312 A).

4.2.5 Teste do Antibiograma

Para a realização do teste do antibiograma das cepas de *Salmonella entérica* encontradas nas amostras de água nos setores do Lajeado Pardo, foi utilizada a metodologia descrita por Kirby-Bauer (1966), usando o método de disco-difusão em placas, também conhecido

como o teste do antibiograma. Para desenvolver essa metodologia, utilizou-se meio de cultura não seletivo ágar Mueller-Hinton (MH).

Inicialmente foram preparados tubos de água salina a 0,85% esterilizados, nos quais foram adicionadas colônias previamente isoladas de *Salmonella enterica* até obter-se a turvação correspondente a 0,5 da escala de McFarland, utilizou-se o espectrofotômetro em absorvância de 625 nm para conferir a escala. Após o inóculo estar pronto, foi introduzido um *swab* estéril dentro do tubo, e com o mesmo realizou-se a inoculação em forma de estrias na superfície do ágar em todas as direções, para que cobrisse toda a superfície da placa. A aplicação dos discos dos antibióticos foi realizada com auxílio de uma pinça estéril para evitar contaminação. Todos os discos foram são uniformemente distribuídos e levemente pressionados sobre a superfície do ágar. As placas foram incubadas por 24 horas a 37 °C, posteriormente, mediu-se os halos com um paquímetro digital.

4.2.5.1 Antibióticos selecionados

Os antibióticos utilizados foram discos da marca Cecon (Sensifar®), contendo os fármacos antimicrobianos nas seguintes concentrações: AMP (ampicilina) 10 µg/mL; CLO (clorofenicol) 30 µg/mL; GEN (gentamicina) 10 µg/mL; CIP (ciprofloxacina) 5 µg/mL e AMC (amoxicilina/ácido clavulânico) 30 µg/mL. A interpretação dos halos de inibição foi realizada de acordo com o padrão descrito no manual do Comitê Brasileiro de Testes de Sensibilidade aos Antimicrobianos (BrCAST).

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Análise Microbiológica

Todas as amostras testadas apresentaram resultados positivos para as análises microbiológicas. De acordo com a Portaria n.º 518 de março de 2004 do Ministério da Saúde que visa regular a vigilância da qualidade dos recursos hídricos, estabelecendo que toda a água utilizada para consumo humano deve estar conforme os padrões de potabilidade, incluindo critérios microbiológicos, físicos, químicos e radioativos (BRASIL, 2004). Nesse contexto, os

critérios microbiológicos requerem a ausência de coliformes fecais e totais, pois, esses microrganismos são indicadores de contaminação fecal e podem incluir patógenos como os que causam diversas doenças relacionadas ao consumo de água contaminada.

Por este motivo, os coliformes são considerados bioindicadores da qualidade da água, e após a coleta, primeiramente realizou-se o teste Colilert® das amostras (Figura 5), o qual indicou o número mais provável de coliformes totais e *Escherichia coli* (Figura 6).

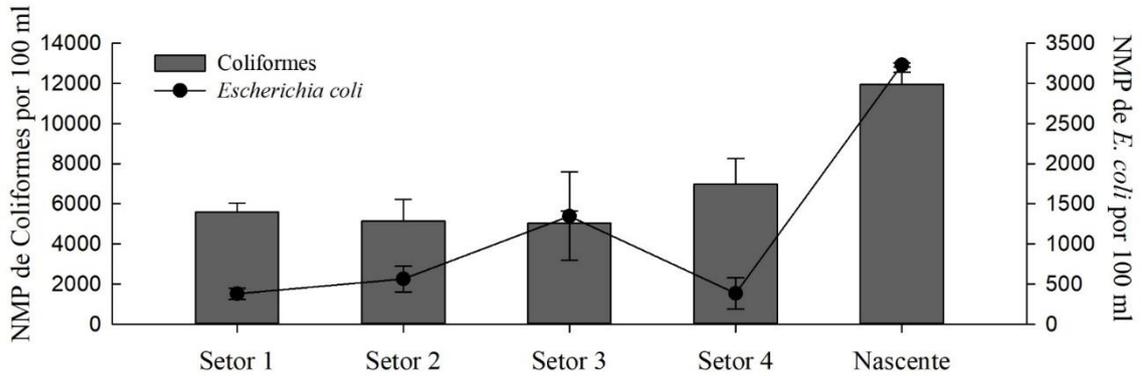
Figura 5 – Teste Colilert®: A) cartela de Colilert® antes de ser incubada. B) cartela de Colilert® após 24 horas incubada indicando contaminação por coliformes totais. C) cartela de Colilert® após 24 horas incubada e avaliada com fluorescência, sendo os poços azúis indicativo de contaminação por *E. coli*.



Fonte: Autor (2023).

A Resolução CONAMA n.º 274, de 29 de novembro de 2000, a qual prevê os parâmetros da água próprias para a balneabilidade, considera impróprias quando, no percurso avaliado, for verificada as seguintes ocorrências no que se refere a *E. coli* e coliformes totais: valor obtido na última amostragem for superior a 2500 coliformes fecais (termotolerantes) ou 2000 *Escherichia coli* por 100 mililitros. Sendo assim, em todos os pontos de coleta (Figura 6) o número de coliformes foram superiores aos estabelecidos pela resolução, e o número de *E. coli* ficou acima apenas no ponto da nascente. Como mencionado anteriormente, as amostras de água coletadas não se enquadram nos parâmetros microbiológicos de potabilidade para o consumo humano.

Figura 6 – Número mais provável (NMP) de coliformes totais e *Escherichia coli* por 100 mL – Teste Colilert®



Fonte: Autor (2023).

Nos cinco pontos de coleta foi possível perceber que os níveis mais altos de ambos os parâmetros foram encontrados nas amostras da nascente do Lajeado Pardo, a qual fica próxima a uma pequena área urbana, o distrito de Osvaldo Cruz. Ao longo do seu percurso, o Lajeado Pardo atravessa áreas de produção agrícola e agropecuária e em alguns pontos encontra-se também residências bem próximas às margens do lajeado. Segundo Perazzoli (2020), o esgoto urbano representa uma fonte importante de veiculação de microrganismos patogênicos. Em virtude da presença de *E. coli* ser abundante em fezes de animais, podendo contribuir para a identificação dessa bactéria em amostras de água da nascente (SILVA, 2022).

Em estudo realizado por Silva (2022) em amostras de águas superficiais do Rio Carioca (RJ), foram encontrados resultados similares aos deste trabalho sendo encontrado coliformes termotolerantes em 99,9% das amostras, 14 de 15 amostras foram submetidas à luz ultravioleta, resultando em fluorescência positiva em todas as amostras, o teste de indol foi positivo em todas as amostras, confirmando a presença de *E. coli* em todas.

Em todos os pontos de coleta foram encontradas cepas de *Salmonella*, porém na legislação brasileira sobre recursos hídricos não há nada referente a *Salmonella* especificamente, no entanto, conforme a definição descrita no Decreto-Lei 986/1969, “alimento” é substância ou mistura de substâncias, no estado sólido, líquido, pastoso ou qualquer outra forma adequada, destinadas a fornecer ao organismo humano os elementos normais à sua formação, manutenção e desenvolvimento (ANVISA, 2021). Sendo assim, água desempenha um papel fundamental na formação e funcionamento do corpo humano, ela é essencial para a vida e é um componente principal de todas as células, tecidos e órgãos do corpo, então pode-se considerá-la como um alimento. Neste contexto, a Instrução Normativa nº 60, de 23 de dezembro de

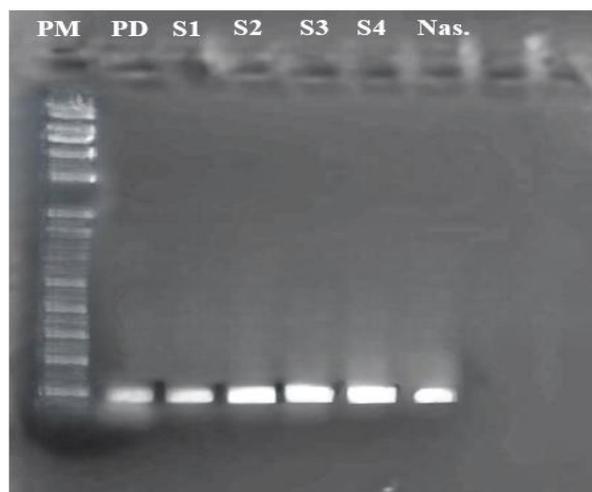
2019, da ANVISA, que classifica como aceitável a ausência de *Salmonella* spp./25 g nas amostras de alimentos prontos para o consumidor (BRASIL, 2019).

4.3.2 Identificação molecular de *Salmonella* spp.

Para todas as cepas ambientais observou-se a identificação positiva para *Salmonella enterica*, ou seja, a técnica de PCR confirmou que as cepas encontradas são do patógeno *Salmonella enterica* em todos os setores do Lajeado Pardo. Na Figura 7, tem-se a fotografia do gel de agarose, após a corrida de eletroforese das amostras, mostrando o marcador de peso molecular (PM), a amostra padrão de *Salmonella enterica* (PD), e na sequência as cepas ambientais por setor de coleta (S1, S2, S3 e S4) mais a amostra coletada na nascente (Nas.).

SILVA (2023) em seu estudo, no qual coletou amostras de água de superfície de 29 pontos hídricos em nove municípios no estado da Paraíba, foi possível observar que das 116 amostras coletadas durante os 4 meses, 75% foram positivas para *Salmonella* spp. a partir do isolamento utilizando caldo Rappaport-Vassiliadis a confirmação do gênero *Salmonella* foi realizado pela técnica de PCR também. Em outro estudo realizado no Vale de Cuianica, no estado de Sinaloa no noroeste do México foram isoladas cepas de *Salmonella* spp. (78/143) das amostras de água de rio coletadas a técnica de identificação utilizada foi PCR (GONZÁLEZ-LÓPEZ et al., 2022).

Figura 7 – Fotografia do gel de agarose após eletroforese com o marcador de peso molecular, a cepa padrão de *Salmonella enterica* e as amostras ambientais.



*PM – Peso Molecular (10.000 a 500 pares de bases); PD – DNA cepa Padrão *Salmonella enterica*; S1 – DNA da Cepa do Setor 1; S2 – DNA da Cepa Setor 2; S3 – DNA da Cepa Setor 3; S4 – DNA da Cepa Setor 4; Nas. – DNA da Cepa da Nascente.

Fonte: Autor (2023).

4.3.3 Resultados do antibiograma

As cepas de *Salmonella enterica* encontradas foram testadas com alguns antibióticos de diferentes classes e gerações. Pode-se observar no (Quadro 1) que todas as cepas de *Salmonella* encontradas nas amostras apresentaram resistência a ampicilina (AMP) e 60% delas foram resistentes também a amoxicilina/clavulanato (AMC). Quando testados os antibióticos ciprofloxacino, cloranfenicol e gentamicina as cepas ambientais, das cinco amostras, apresentaram-se sensíveis (Quadro 1).

O resultado obtido neste trabalho foi semelhante a outros estudos encontrados na literatura, em uma pesquisa realizada em 2020 em isolados de *Salmonellas* spp. 75% das cepas apresentaram resistência a ampicilina (AMP) (CARON, 2020). Cortez (2006), encontrou um resultado de 86,2% de amostras resistentes ao aztreonam e à ampicilina e 55,2% de cepas resistentes à amoxicilina/clavulanato. Machado et al. (2020) obtiveram resultados similares com uma taxa de 89,95% de amostras resistentes à ampicilina. As cepas ambientais e a padrão deste trabalho demonstraram sensibilidade aos demais antibacterianos utilizados neste teste.

Quadro 1 – Perfil de resistência bacteriano das cepas isoladas de *Salmonella enterica*.

Antibacterianos	Locais de coleta					Cepa controle
	SETOR 1	SETOR 2	SETOR 3	SETOR 4	NASCENTE	<i>Salmonella enterica</i> padrão
Ciprofloxacino (CIP)	S	S	S	S	S	S
Amoxicilina/Clavulanato (AMC)	R	R	R	S	S	S
Ampicilina (AMP)	R	R	R	R	R	S
Cloranfenicol (CLO)	S	S	S	S	S	S
Gentamicina (GEN)	S	S	S	S	S	S

*S – Sensível; R – Resistente.

Autor (2023).

Todas as cepas ambientais apresentaram resistência a AMP, um antibiótico classificado como penicilinas de primeira geração. Além disso, algumas cepas apresentaram resistência à AMC sendo a amoxicilina um antibiótico da classe das penicilinas. Porém, quando associada com o clavulanato de potássio, um inibidor de beta-lactamase, uma enzima que algumas bactérias produzem para se protegerem dos efeitos dos antibióticos beta-lactâmicos, como as penicilinas, sendo que a combinação dos dois amplia o espectro de ação antibacteriano, permitindo tratar infecções causadas por bactérias que seriam resistentes à amoxicilina isoladamente (DUARTE, 2019).

A pressão de seleção aplicada pelos antibióticos, que são utilizados nos ambientes agrícolas e clínicos, tem contribuído para a evolução e dispersão de genes que conferem resistência a bactérias em escala global, independentemente de suas origens e nos mais variados tipos de sistemas ambientais (CASTRO et al., 2022).

No Brasil, a Portaria Ministerial nº 193, de 12 de maio de 1998, proíbe o uso de penicilinas, cloranfenicol, tetraciclina, e sulfonamidas sistêmicas para a alimentação animal (BRASIL 1998), uma vez que, segundo Caron (2020), os diferentes antibióticos utilizados na produção animal não são completamente metabolizados pelo organismo, resultando na sua excreção nas fezes e urina, ou ainda na forma original do composto, e o uso desses excrementos como fertilizantes para o solo resulta no acúmulo e dispersão dos resíduos, o que pode eventualmente atingir corpos d'água.

Além da utilização de antimicrobianos na produção animal, eles desempenham um papel crucial no tratamento de doenças em seres humanos. No entanto, o uso irracional desses medicamentos ocorre com frequência, como interrupção prematura de tratamentos ou uso desnecessário. Assim como no organismo dos animais não humanos, essas substâncias muitas vezes não são completamente metabolizadas em humanos, resultando no mesmo destino dos resíduos animais, que é a contaminação dos recursos hídricos e solo.

O aumento dos casos de resistência antimicrobiana dificulta a seleção de um antibiótico sensível, fazendo com que o uso de combinações de antibióticos torne-se uma prática comum na medicina clínica, principalmente no tratamento de pacientes gravemente enfermos (TRAJANO, 2020).

Segundo Coutinho (2023), para o tratamento contra infecções causadas por *Salmonella* spp. os antibióticos mais indicados são: fluoroquinolonas, cloranfenicol e oxitetraciclina. No presente estudo foi utilizado ciprofloxacino, o qual pertence à classe das fluoroquinolonas. De acordo com Sarkoezy (2001), as fluoroquinolonas são antibacterianos sintéticos usados no

tratamento de diversas infecções bacterianas, que inibem a DNA girase, abolindo sua atividade ao intervir na reação de reagrupamento do DNA, e a resistência a este antibacteriano desenvolve-se lentamente e geralmente é cromossômica e não mediada por plasmídeos.

Por outro lado, conforme Pereira (2022), o antibiótico cloranfenicol age na inibição da síntese proteica, ligando-se de forma reversível à cavidade da peptidil transferase (subunidade 50S) e inibe a ligação do aminoacil tRNA. Este medicamento deve ser utilizado para o tratamento da febre tifoide, doença bacteriana aguda causada pela *Salmonella enterica*, uma vez que esta bactéria é resistente a outros medicamentos (SILVA, 2022).

Outro antibiótico testado no estudo foi a gentamicina, que faz parte dos aminoglicosídeos, estes, por sua vez, após entrarem na célula, ligam-se à subunidade 30S do ribossoma, inibindo desta forma a síntese proteica (PEREIRA, 2022).

De acordo com a Tabela 3, três cepas ambientais de *Salmonella enterica* apresentaram múltipla resistência bacteriana, ou seja, 60% das amostras foram resistentes a dois ou mais antibióticos o que caracteriza múltipla resistência a antimicrobianos (MAR).

Tabela 3 – Índice de múltipla resistência aos antimicrobianos (MAR) nas cepas de *Salmonella enterica* isoladas.

Pontos de coleta	Drogas resistentes	Mar
Setor 1	AMP, AMC	0,4
Setor 2	AMP, AMC	0,4
Setor 3	AMP, AMC	0,4
Setor 4	AMP	0,2
Nascente	AMP	0,2

*AMP = Ampicilina, AMC = Amoxicilina/Clavulanato. Fonte Autor (2023).

Segundo Carvalho et al. (2009), em seus estudos sobre resistência no gênero *Salmonella* os seguintes resultados para o índice MAR foram obtidos: em um total de 23 cepas estudadas, três (13%) apresentaram índice MAR (múltipla resistência a antimicrobianos) igual ou superior a 0,29, ou seja, resistência a dois ou mais antimicrobianos dos seis antimicrobianos usados.

Ainda, em seus estudos, Carvalho et al. (2009), deixam claro que a alta frequência de resistência múltipla encontrada nos microrganismos isolados da água indica que existe um

grande potencial para a transferência de genes de resistência entre a microbiota. Isso pode ter um papel crucial na disseminação e prevalência da resistência antimicrobiana no ambiente.

A resistência aos antibacterianos pode ser considerada um fenômeno natural resultante de mutações, transdução ou seleção. Essas alterações podem surgir como uma resposta das bactérias à exposição a antibióticos e a sua presença no ambiente, o que pode levar à transferência de genes entre diferentes linhagens dentro do mesmo gênero ou até mesmo entre gêneros distintos (TEIXEIRA et al., 2019).

Com base nos resultados obtidos, supõem-se que fatores que estão causando essa resistência nos microrganismos, o uso indiscriminado e irresponsável dos antibacterianos na forma terapêutica ou profilaticamente, em humano e na produção animal. Segundo Machado et al. (2020), mundialmente o principal fator que impulsiona a resistência antimicrobiana é a sua utilização na produção animal, com diferentes finalidades, tratamento de doenças e como promotor do crescimento.

4.4 CONCLUSÃO

Nas amostras de água coletadas nos diferentes setores do Lajeado do Pardo constatou-se a ocorrência de *Salmonella enterica* através do método de PCR, assim como foi verificada a resistência de cepas aos antibióticos amoxicilina/clavulanato e ampicilina. Além disso, constatou-se multirresistência de algumas cepas avaliadas (n=3).

A (multi)resistência das cepas ambientais aos antimicrobianos testados, sugere que deve haver maior controle no uso destes antibióticos, assim como a necessidade de mais estudos sobre como prevenir que estes fármacos persistam no meio ambiente.

Evidencia-se a importância de medidas de prevenção e controle para reduzir a ocorrência de *Salmonella* spp. em recursos hídricos. Além disso, é fundamental promover pesquisas adicionais para aprofundar o conhecimento sobre a aquisição de resistência das bactérias aos antibióticos no meio ambiental, visando o desenvolvimento de estratégias mais eficazes de controle e prevenção de surtos de doenças causadas por *Salmonella* na população humana.

4.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Novos ingredientes e alimentos**. 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/sectorregulado/regularizacao/alimentos/novos-ingredientes-e-alimentos> . Acesso em: 11 de set de 2023.

ARVANITIDOU, M., TSAKRIS, A., CONSTANTINIDIS, T. C., KATSOUYANNOPOULOS, V. C. (1997). Transferable antibiotic resistance among *Salmonella* strains isolated from surface waters. **Water Research**, 31(5), 1112–1116. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(96\)00340-5](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(96)00340-5).

AZEVEDO, M. G. C. **Avaliação microbiológica de linguiças comercializadas nos municípios do Rio de Janeiro (RJ) e Porto Alegre (RS)**. 2020. 37f. Trabalho de Conclusão de Curso, (Especialização)-Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2020.

BAUER, A.W., KIRBY, W.M., SHERRIS, J.C., TURCK, M. (1966). Teste de suscetibilidade a antibióticos por um método padronizado de disco único. **American Journal of Clinical Pathology**, 45(4), 493-496.

BENNETT, P.M. Integrons e cassetes de genes: um kit de construção genética para bactérias. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, Londres, v. 43, p. 1–4, 1999.

BIERHALS, N. D.; BRIXNER, B. A; SILVA, D.; OLIVEIRA, C. F.; RENNER, D. P.; Extração de dna genômico bacteriano: uma comparação de métodos comerciais e in house. **Revista Saúde (Sta. Maria)**. 2020; 46 (2).

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. (2019a, dezembro 26). **Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos** (Instrução normativa nº 60, de 23 de dezembro de 2019). Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, edição 249. Disponível: <<https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-60-de-23-de-dezembro-de-2019-235332356>>. Acesso em: 20/10/22

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim Epidemiológico - Distribuição temporal dos surtos notificados de doenças transmitidas por alimentos – Brasil, 2007-2015**. Volume 51, nº 32, agosto 2020. Disponível em: <file:///C:/Users/Acer/Downloads/boletim-epidemiologico-svs-32.pdf> . Acesso em: 12/12/2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria gm/ms nº 888, de 4 de maio de 2021. Diário oficial da união Publicado em: 07/05/2021 | Edição: 85 | Seção: 1 | Página: 127. Disponível em: <<https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/portaria-gm/ms-n-888-de-4-de-maio-de-2021-318461562>> Acesso em: 22 de nov. de 2022

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 518, de 25 de março de 2004. Legislação em vigilância sanitária. **Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade e dá outras providências**. Disponível em: <http://189.28.128.100/dab/docs/legislacao/portaria518_25_03_04.pdf> Acesso em: 05 de março de 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual técnico de diagnóstico laboratorial de *Salmonella* spp.**: diagnóstico laboratorial do gênero *Salmonella* / Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz. Laboratório

de Referência Nacional de Enteroinfecções Bacterianas, Instituto Adolfo Lutz. – Brasília: Ministério da Saúde, 2011.

BRASIL. Fundação Nacional de Saúde (FUNASA). **Manual Prático de Análise de Água**, p. 153, 2013b. Disponível em: < <http://www.funasa.gov.br>>. Acesso em: 20, outubro 2022.

BARMAK, S.M., SINYAVSKIY, Y.A., BERDYGALIEV, A.B., SHARMANOV, T.S., SAVITSKAYA, I.S., SULTANKULOVA, G.T., ZHOLDYBAYEVA, E.V. Development and Evaluation of Alternative Methods to Identify the Three Most Common Serotypes of *Salmonella enterica* Causing Clinical Infections in Kazakhstan. **Microorganisms**, 2021, 9, 2319. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9112319>

BRUMFIELD, K. D. et al. *Salmonella*: Um patógeno persistente transmitido por alimentos. **Microbiology Spectrum**, v. 6, n. 6, pág. 1-17, 2018. DOI: 10.1128/microbiolspec.PFS-0009-2018.

BRCAS, Brazilian Committee On Antimicrobial Susceptibility Testing. **Método de disco-difusão**. 2022. Disponível em: <https://brcast.org.br/documentos/documentos-3/>. Acesso em: 18 dezembro. 2021.

BRCAS, Brazilian Committee On Antimicrobial Susceptibility Testing. **Tabela pontos de corte clínicos**. 2022. Disponível em: <https://brcast.org.br/documentos/documentos-3/>. Acesso em: 20 de janeiro 2023.

CARON, E. F. F. Comparação temporal do perfil de resistência *in vitro* aos antimicrobianos em isolados de *Salmonella* spp. de carne de frango entre 2004–2020. 2021.

CARNEIRO, D. O., COSTA, M. S. F.. Características e patogenicidade da *salmonella enterica*: uma revisão de literatura. **Visão Acadêmica**, v. 21, n. 1, 2020.

CARVALHO, F. C. T. de; et al. Susceptibilidade antimicrobiana de *Salmonella* spp. isoladas de fazendas de carciniculturas no Estado do Ceará. **Rev. Ciênc. Agron.**, v. 40, n. 4, p. 549-556, out-dez, 2009. <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/27571>.

CASTRO-VARGAS, R. E., HERRERA-SÁNCHEZ, M. P., RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, R., RONDÓN-BARRAGÁN, I. S. (2020). Antibiotic resistance in *Salmonella* spp. isolated from poultry: A global overview. **Veterinary world**, 13(10), 2070–2084. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2020.2070-2084> .

CDC - Centros de Controle e Prevenção de Doenças. **O que é salmonelose**. 2010. Disponível em: <https://www.cdc.gov/salmonella/general/index.html> . Acesso em: 11 dezembro. 2022.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente (MMA). Resolução **CONAMA nº 274**, de 29 de novembro de 2000. Diário Oficial da União, 2000.

CORTEZ, A. L. L. et al. Resistência antimicrobiana de cepas de *Salmonella* spp. isoladas de abatedouros de aves. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 73, p. 157-163, 2006. <https://doi.org/10.1590/1808-1657v73p1572006>

COUTINHO, L. C.; LIMA, L.R.. Patogenicidade da *Salmonella* spp. Em resposta a imunidade inata e adaptativa: levantamento bibliográfico. **SCISAUDE.**, p. 90, 2023.

DA SILVA, A. J. H. et al. *Salmonella* spp. um agente patogênico veiculado em alimentos. **Encontro de Extensão, Docência e Iniciação Científica (EEDIC)**, v. 5, n. 1, 2019.

DUARTE, SM da S. et al. Revisão Sistemática da Resistência e Farmacodinâmica de Antibióticos. **Revista Brasileira de Desenvolvimento**, [S. l.], v. 5, n. 10, pág. 21476–21489, 2019. DOI: 10.34117/bjdv5n10-301. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/4068>. Acesso em: 08 mai. 2023.

COELHO, C. de L. **Análise microbiológica da água: técnica de PCR**. 2020. Tese de Doutorado. Dissertação (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas) Universidade de Lisboa, Faculdade de Farmácia, 2020. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10451/52510>. Acesso em: 23 jul. 2023

CORDEIRO, M. S. C. **Correlação entre *E. coli*, Coliformes fecais e totais e *Salmonella* SPP. em alimentos prontos a comer**. 2014. Dissertação (Mestrado em Segurança Alimentar e Saúde Pública) Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz. 2014. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10400.26/12082>. Acesso em: 08 jul 2023

FERREIRA, C. T. P. de A. Condições higiênico-sanitárias e sua importância para a prevenção de surtos de doenças transmitidas por alimentos ocasionadas por *Salmonella* spp. **Alimentos: Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente**, v. 2, n. 4, p. 41-65, 2021.

GONZÁLEZ-LÓPEZ, et al. Prevalência e diversidade genômica de *Salmonella enterica* recuperada da água do rio em uma grande região agrícola no noroeste do México. **Microorganismos** 2022, 10, 1214. <https://doi.org/10.3390/microorganismos10061214>

JAIMES-BERNAL, C. P., TORRES-CAYCEDO, M. I., HERRERA, D. A. G. (2022). Biomarcadores moleculares do gênero *Salmonella* isolados em alimentos. **Revista Saúde Uninorte**, 38 (3), 858-874. Epub 29 de maio de 2023. <https://doi.org/10.14482/sun.38.3.641.39>.

HASSANA, A. B., et al. Estudo de genes de virulência, resistência antimicrobiana e parentesco genético de isolados de *Salmonella* de origem alimentar da Tunísia. **Jornal de Proteção Alimentar**, v. 85, n. 12, pág. 1779-1789, dez. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.4315/JFP-22-167>. Acesso em: 12 dezembro. 2022

KOUADIO-NGBESSO, N. et al. Comparative biotypic and phylogenetic profiles of *Escherichia coli* isolated from resident stool and lagoon in Fresco (Côte d'Ivoire). **International Journal of Microbiology**, v. 2019, 2019.

LAHIRI, A., et al. Visitando a biologia celular da infecção por *Salmonella*. **Micróbios e Infecção**, v. 12, p. 809-818, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2010.05.010>

LEVANTESI, C. et al. *Salmonella* em água de superfície e potável: ocorrência e transmissão mediada pela água. **Alimentos Res. Int.**, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.06.037>.

MACHADO, G. B. et al. Isolamento e perfil de suscetibilidade a antimicrobianos de isolados de *Salmonella* obtidos durante o abate de suínos. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 8, p. 54405-54413, 2020.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DA REFORMA AGRÁRIA (Brasil). Portaria nº 193, de 14 de maio de 2014. Disponível em: <http://www.acsurs.com.br/wp-content/uploads/2014/05/arquivosportaria193.pdf>. Acesso em: 2 de mai de 2023.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (BR). Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Articulação Estratégica de Vigilância em Saúde. Manual de coleta e transporte de espécimes clínicos e ambientais para diagnóstico de patógenos bacterianos responsáveis por DTA e DDA [recurso eletrônico]. **Brasília: Ministério da Saúde**; 2022. 35 pág. ISBN 978-65-5993-300-6.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). 10 Fatos sobre resistência antimicrobiana. Disponível em: <https://news.un.org/pt/story/2016/09/1562211>. Acesso em 27/01/2023.

ORTEGA A., Y. et al. Primeiro relato de *Streptococcus agalactiae* isolado de *Oreochromis niloticus* em Piura, Peru: identificação molecular e lesões histopatológicas. Relatórios de Aquicultura. Amsterdã: **Elsevier Science Bv**, v. 74-79, 2016. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/186300>. Acesso em: 12 dez. 2022.

PAGANINI, C. C. **Avaliação e modelagem do comportamento de sorotipos de Salmonella enterica sob estresse osmótico: um estudo do Fenômeno Fênix**. 2022. (Tese doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Florianópolis, 2022. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/241706>. Acessado em: 11 set. 2023.

PERAZZOLI, E., SAVARIZ, A., DEGENHARDT, R. Monitoramento de *salmonella* spp. No rio das pedras. **Anuário Pesquisa e Extensão Unoesc Joaçaba**, v. 5, p. e27122-e27122, 2020.

PEREIRA, N. R. Aminoglicosídeos, tetraciclina, gliciliclinas e cloranfenicol. **APOIO INSTITUCIONAL: APOIO CIENTÍFICO**, p. 38, 2022.

RUBIO, M. da S. **Utilização de PCR em tempo real quantitativo para diagnóstico diferencial entre Salmonella enterica subespp. enterica sorovares Enteritidis, Typhimurium e Gallinarum (biovars Gallinarum e Pullorum) em aves domésticas (Gallus gallus)**. Tese (Doutorado Medicina Veterinária – FCAV), Universidade Estadual Paulista, SP, Jaboticabal 2017.

SERWER, P. Agarose gels: Properties and use for electrophoresis. **Electrophoresis**, v. 4, n. 6, p. 375-382, 1983.

SÁRKÖZY, G. Quinolones: a class of antimicrobial agents. **Veterinari Medicina**, v.46, n.9/10, p.257-274, 2001.

SILVA, N. J. da. **Métodos de detecção de salmonella enterica em amostras de água.** 2023. Trabalho de conclusão de curso (Ciências Veterinárias) Universidade Federal da Paraíba. 2023. Disponível em: <https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/123456789/27431>. Acesso em :10 de set. 2023

SILVA, M. Cloranfenicol. **Ver SALUS-Revista Científica Internacional da Rede Académica das Ciências da Saúde da Lusofonia**, v. 4, n. Sup, p. 109-109, 2022.

SILVA, T. de S. M. da et al. Perfil de sensibilidade aos antimicrobianos das cepas de *Escherichia coli* isoladas de amostras de águas superficiais do Rio Carioca-RJ, Brasil. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 27, p. 673-682, 2022.

TEIXEIRA, A. R., FIGUEIREDO A. F. C., FRANÇA R. F.. Resistência bacteriana relacionada ao uso indiscriminado de antibióticos. 2019. **Revista Saúde em Foco** – Edição nº 11 – Ano: 2019

TRAJANO, Í. M. R. et al. Capítulo 4 - Avaliação antimicrobiana da associação ampicilina-ciprofloxacina frente a bactérias gram-negativas de origem. **Microbiologia: tecnologia a serviço da saúde**, p. 72..

VOLPI G. B. et al. (*no prelo*) **Parâmetros de qualidade de água avaliados na microbacia Lajeado Pardo no município de Frederico Westphalen – Rio Grande do Sul, Brasil.** Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental). Universidade Federal de Santa Maria, Frederico Westphalen, RS.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Sobre os recursos hídricos, é vital implementar práticas eficazes de tratamento de água e saneamento básico para assegurar a qualidade da água potável. Sendo assim, as medidas de controle ambiental e vigilância epidemiológica devem ser fortalecidas para evitar a contaminação dos mananciais hídricos por resíduos humanos e animais, minimizando assim o risco de disseminação de agentes patogênicos como *Salmonella*.

A contaminação por *Salmonella* está frequentemente associada ao consumo de alimentos e água contaminados, sendo os recursos hídricos uma importante via de transmissão. O gênero *Salmonella* representa uma séria ameaça à saúde pública em todo o mundo e a análise das inter-relações entre *Salmonella*, recursos hídricos e resistência antimicrobiana destaca a necessidade de abordar essa problemática de maneira integrada.

Sobre a resistência antimicrobiana, a utilização indiscriminada de antimicrobianos na medicina humana, veterinária e na agricultura contribui para o desenvolvimento e disseminação de cepas resistentes de *Salmonella*. É imprescindível promover o uso racional de antibióticos, bem como investir em pesquisas para o desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos eficazes.

Campanhas educativas devem ser difundidas para informar as pessoas sobre os riscos associados a *Salmonella* e incentivar práticas seguras de higiene alimentar e pessoal. A educação dos profissionais de saúde, agricultores e trabalhadores do setor alimentício também é essencial para garantir a aplicação de boas práticas e o manejo adequado dos alimentos.

Portanto o controle de *Salmonella*, a preservação dos recursos hídricos e o combate à resistência antimicrobiana são problemas que estão inter relacionados, sendo necessária uma abordagem multidisciplinar e colaborativa. É indispensável também a cooperação entre governos, setores da saúde, agricultura, indústria alimentícia e a sociedade como um todo, para que se possa reduzir significativamente os casos de salmonelose, proteger os recursos hídricos e preservar a eficácia dos antimicrobianos para as gerações futuras.

6 REFERÊNCIAS GERAIS

AMAGLIANI, G., et al. *Salmonella* Abortusovis: An Epidemiologically Relevant Pathogen. **Current microbiology**, 79(1), 3, 2021. <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02689-1>

AMAGLIANI, G.; BRANDI, G.; SCHIAVANO, G. F. Incidência e papel da *Salmonella* na segurança de frutos do mar. **Food Research International**, v. 45, n. 2, pág. 780-788, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.06.022>.

ANDRADE, L. N., DARINI, A. L. C. Resistência bacteriana –Parte 1: Mecanismos de Resistência aos antibióticos -Resistênciabacteriana –Parte 2: Conceitos e Definições. **Journal of Infection Control**, v. 7, n.3, 2018.

AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS (Brasil). **Conjuntura dos recursos hídricos no Brasil 2019: informe anual**. Brasília: ANA, 2019

APPELBAUM, P. C.; HUNTER, P. A. The fluoroquinolone antibacterials: past, present and future perspectives. **International journal of antimicrobial agents**, 16(1), 5–15, 2000. [https://doi.org/10.1016/s0924-8579\(00\)00192-8](https://doi.org/10.1016/s0924-8579(00)00192-8)

ARRUDA, H., et al. VOSviewer and Bibliometrix. **Journal of the Medical Library Association : JMLA**, 110(3), 392–395, 2022. <https://doi.org/10.5195/jmla.2022.1434>

ARSHAD, R. et al. Uma revisão do uso de nanomateriais para o diagnóstico e terapia de *Salmonella typhi*. **Journal of Molecular Structure**, v. 1230, p. 129928, 2021. See More <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.129928>

BERNARDES, N. B. et al. Intoxicação alimentar: Um problema de Saúde Pública. **ID on line. Revista de psicologia**, v. 12, n. 42, p. 894-906, 2018. <https://doi.org/10.14295/online.v12i42.1373>

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual técnico de diagnóstico laboratorial de *Salmonella* spp.: diagnóstico laboratorial do gênero *Salmonella* / Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz. Laboratório de Referência Nacional de Enteroinfecções Bacterianas, Instituto Adolfo Lutz. – Brasília : Ministério da Saúde, 2011. 60 p. : il. – (Série A. Normas e manuais técnicos)

BUSTOS, C. P., et al. Genotypic diversity of *Salmonella* ser. Abortusequi isolates from Argentina. **Equine veterinary journal**, 52(1), 98–103, 2020. <https://doi.org/10.1111/evj.13123>

CADORE, J. S., TOCHETTO, M. Recursos Hídricos: Panorama geral do setor e perspectivas ao atendimento da Agenda 2030. **Revista Brasileira de Meio Ambiente**, v. 9, n. 3, 2021.

CALVO, J., MARTÍNEZ, L. M. Mecanismos de acción de los antimicrobianos. **Enfermedades infecciosas y microbiología clínica**, v. 27, n. 1, p. 44-52, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2008.11.001>

CAMPIONI, F., VILELA, FP, CAO, G. et al. As análises de sequenciamento do genoma completo revelaram que as cepas de *Salmonella enterica* sorovar Dublin do Brasil pertenciam

a dois clados predominantes. **Sci Rep** **12**, 10555, 2022. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-14492-4>

CASTRO, Í. R. .R. de; CASTRO, L. R. de; LIMA, A. C. S. . Bactérias resistentes a antibióticos e o meio aquático: efeito na produção animal. **Ciência Animal**, [S. l.], v. 31, n. 3, p. 98–111, 2022. Disponível em: <https://revistas.uece.br/index.php/cienciaanimal/article/view/9320> . Acesso em: 18 nov. 2023.

Colaboradores da Resistência Antimicrobiana. Carga global da resistência antimicrobiana bacteriana em 2019: uma análise sistemática. **A Lanceta**; 399(10325): P629-655, 2022. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0).

COUTINHO, L. C., LIMA, L. R. Patogenicidade da *Salmonella* spp. Em resposta a imunidade inata e adaptativa: levantamento bibliográfico **SCISAUDE.**, p. 90, 2023.

DA SILVA, J. M. B.; HOLLENBACH, C. B. Fluoroquinolonas x Resistência bacteriana na medicina veterinária. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, p. 363-369, 2020. <https://doi.org/10.1590/1808-1657v77p3632010>

DE ARRUDA, C. J. M., et al. Revisão bibliográfica de antibióticos beta-lactâmicos. **Revista Saúde em Foco** – Edição nº 11, 2019.

DE FARIA, R. et al. Perfil de resistência à antimicrobianos da classe dos Beta-lactâmicos e Aminoglicosídeos em cepas de *Escherichia coli* isoladas entre janeiro de 2015 e dezembro de 2018. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 7, p. 51673-51691, 2022. DOI:10.34117/bjdv8n7-198

DE OLIVEIRA, J. J. **Perfis de virulência e resistência de *Salmonella enterica* isolados em pescado**. 2019. Tese (Doutorado em ciência animal) Universidade Federal de Goiás, GO, 2019.

DOS SANTOS, K. P. O., et al. *Salmonella* spp. como agente causal em Doenças Transmitidas por Alimentos e sua importância na saúde pública: Revisão. **Pubvet**, v. 14, p. 148, 2020.

FREIRES, M. S., JUNIOR, O. M. R. Resistência bacteriana pelo uso indiscriminado da azitromicina frente a Covid-19: uma revisão integrativa. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 1, p. e31611125035-e31611125035, 2022.

FREITAS, A. R. 4. Glicopeptídeos, lipopeptídeos e polipeptídeos. **APOIO INSTITUCIONAL: APOIO CIENTÍFICO**, p. 25, 2022.

GAL-MOR, O., BOYLE, E. C., GRASSL, G. A. Same species, different diseases: how and why typhoidal and non-typhoidal *Salmonella enterica* serovars differ. **Frontiers in microbiology**, v. 5, p. 391, 2014.

GONÇALVES, J. P. et al. Evidência associada ao uso de oxazolidinonas no tratamento de infecções da pele e das estruturas da pele. **Acta Médica Portuguesa**, v. 32, n. 6, p. 453-458, 2019. <http://hdl.handle.net/10362/81159>

GRIMONT, P. A. D.; GRIMONT, F.; BOUVET, P. Taxonomy of the Genus *Salmonella*. In: WRAY, C.; WRAY, A. (Ed.). *Salmonella in Domestic Animals*. New York: CABI Publishing, 2000. p. 1-17.

GUERREIRO, L. F. **Cefalosporinas e Carbapenemos no tratamento de infecções provocadas por bactérias Gram-negativas**. 2018. Tese de Mestrado (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Universidade do Algarve. Faculdade de Ciências e Tecnologia, 2018. <http://hdl.handle.net/10400.1/12514>

GUIMARÃES, D. O., MOMESSO, L. da S., PUPO, M. T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química nova**, v. 33, p. 667-679, 2010.

JAJERE S. M. A. Review of *Salmonella enterica* with particular focus on the pathogenicity and virulence factors, host specificity and antimicrobial resistance including multidrug resistance. **Veterinary world**, 12(4), 504–521, 2019. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2019.504-521>

KHAN, J. A., et al. Antibioqram and multiple antibiotic resistance index of *Salmonella enterica* isolates from poultry. **Journal of Pure and Applied Microbiology**, v. 9, n. 3, p. 2495-2500, 2015.

KURTZ, J. R., GOGGINS, J. A., MCLACHLAN, J. B. (2017). *Salmonella* infection: Interplay between the bacteria and host immune system. **Immunology letters**, 190, 42–50. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2017.07.006>

KRUMPERMAN, P. H. Indexação de resistência múltipla a antibióticos de *Escherichia coli* para identificar fontes de alto risco de contaminação fecal de alimentos. **Microbiologia aplicada e ambiental**, v. 46, n. 1, pág. 165-170, 1983.

LIMA, C. C., BENJAMIM, S. C. C., SANTOS, R. F. S. dos. Mecanismo de resistência bacteriana frente aos fármacos: uma revisão. **CuidArte, Enferm**, p. 105-113, 2017.

Lou, L., Zhang, P., Piao, R., Wang, Y. *Salmonella* Pathogenicity Island 1 (SPI-1) and Its Complex Regulatory Network. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, 9, 270, 2019. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00270>.

MENEZES, R. N., TEIXEIRA, V. A. P., SCHRÖDER, L. G. Relação entre saneamento básico e saúde pública. 2023. Disponível em: <http://hdl.handle.net/123456789/4608>. Acesso em 10 set. 2023.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). **Saúde animal: Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA) – Salmonelas (2022)**. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/pnsa/salmonelas>. Acesso em: 14/02/23

MOTA, L. M.; VILAR, F. C.; DIAS, L. B. A.; NUNES, T. F.; MORIGUTI, J. C. Uso racional de antimicrobianos. **Medicina (Ribeirão Preto)**, [S. l.], v. 43, n. 2, p. 164-172, 2010. DOI: 10.11606/issn.2176-7262.v43i2p164-172.

NORBERG A. N, NORBERG P. R.B. M., MANHÃES F. C., et al.. A pandemia da COVID-19 como catalizadora da seleção natural de bactérias multidroga resistentes. **InterScience-Place**, [S. l.] , v. 1, 2022. Disponível em: <http://interscienceplace.org/index.php/isp/article/view/323> . Acesso em: 12 set. 2023.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS (ONU). **Doenças resistentes a medicamentos podem causar 10 milhões de mortes por ano no mundo.** Disponível em: <https://brasil.un.org/pt-br/83018-doen%C3%A7as-resistentes-medicamentos-poder%C3%A3o-causar-10-milh%C3%B5es-de-mortes-por-ano-no-mundo> . Acesso em: 22 maio. 2023.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS (ONU). **OMS publica lista inédita de bactérias resistentes a antibióticos.** Disponível em: <https://brasil.un.org/pt-br/75855-oms-publica-lista-in%C3%A9dita-de-bact%C3%A9rias-resistentes-antibi%C3%B3ticos> . Acesso em: 22 maio. 2023.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **Semana Mundial de Conscientização Antimicrobiana 2022.** Disponível em: <https://www.who.int/campaigns/world-antimicrobial-awareness-week/2022> . Acesso em: 30 mar. 2023.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **Mais de 4,2 bilhões de pessoas vivem sem acesso a saneamento básico.** 2020. Disponível em: <https://brasil.un.org/pt-br/101526-mais-de-42-bilh%C3%B5es-de-pessoas-vivem-sem-acesso-saneamento-b%C3%A1sico>. Acessado em: 10/09/23.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Ficha informativa: Água potável.** Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/drinking-water> . Acesso em: 4 jul. 2023.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Ficha informativa: Saneamento.** [SI]: OMS, [sd]. 2022. Disponível em: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/sanitation> . Acesso em: 4 jul. 2023.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Tifoide (febre tifoide)** [Online] 2019. Disponível em: https://www.who.int/health-topics/typhoid#tab=tab_1 . Acesso em: 4 jul. 2023.

OPAS (Organização Pan-Americana da Saúde). **Uma em cada três pessoas no mundo não tem acesso a água potável, revela novo relatório do UNICEF e da OMS.** Disponível em: <https://www.paho.org/pt/noticias/18-6-2019-uma-em-cada-tres-pessoas-no-mundo-nao-tem-acesso-agua-potavel-revela-novo>>. Acesso em: 28 de mar de 2023.

PEREIRA, E. C. M., et al. Tetraciclina e glicilciclina: uma visão geral. **Química nova**, v. 33, p. 700-706, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000300038>

PÉREZ, A. M de C. Reacción en cadena de la polimerasa (Polymerase Chain Reaction, PCR). 2011. <http://hdl.handle.net/10251/10700>

ROCHA, E. J. O. **Resistência bacteriana a antibióticos: uma revisão**. 2021. Trabalho de conclusão de curso - (Ciências Biológicas: microbiologia) IF Goiano. Disponível em: <https://repositorio.ifgoiano.edu.br/handle/prefix/1658>. Acessado em: 21 jul. 2023

SHU-KEE Eng, P. P., et al. *Salmonella* : Uma revisão sobre patogênese, epidemiologia e resistência a antibióticos, **Frontiers in LifeScience**, 8:3, 28429, 2015.
DOI: [10.1080/21553769.2015.1051243](https://doi.org/10.1080/21553769.2015.1051243)

SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÕES SOBRE SANEAMENTO – SNIS. Serviços de Água e Esgotos. Disponível em: <http://www.snis.gov.br/diagnostico-anual-agua-e-esgotos/diagnostico-dos-servicos-de-agua-e-esgotos-2019> . Acessado 23 de agosto de 2021.

SOUZA, J. R. de et al. A Importância da Qualidade da Água e os seus Múltiplos Usos: Caso Rio Almada, Sul da Bahia, Brasil. REDE - **Revista Eletrônica do PRODEMA**, Fortaleza, v. 8, n. 1, abr. 2014. ISSN 1982-5528. Disponível em: <http://www.revistarede.ufc.br/rede/article/view/217> . Acesso em: 10 set. 2023.

STANAWAY, Jeffrey D. et al. The global burden of typhoid and paratyphoid fevers: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 19, n. 4, p. 369-381, 2019. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30685-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30685-6)

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. Microbiology: an introduction. 13th edition. **Pearson**. 2019. 964 p.

VELOSO, W. B. **Determinação de antibióticos macrolídeos sobre eletrodo impresso de carbono modificado com carbon black super P em sistema BIA-AMP**. 2021. 81 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Química/CCET) - Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2021. Disponível em: <https://tedebc.ufma.br/jspui/handle/tede/tede/3271>. Acesso em: 25 jul. 2023.

VILELA, F. P, *et al.* A caracterização genômica de *Salmonella enterica* sorovar Choleraesuis do Brasil revela um isolado de vesícula biliar suína portador do gene *mcr-1.1* de resistência à colistina. **Braz J Microbiol** **53**, 1799–1806 (2022). <https://doi.org/10.1007/s42770-022-00812-3>

WANG, X., ZHU, S., ZHAO, JH. Et al. Limites genéticos delineiam o potencial patógeno humano *Salmonella bongori* em linhagens discretas: divergência e especiação. **BMC Genomics** **20**, 930 (2019). <https://doi.org/10.1186/s12864-019-6259-z>

ANEXO A – Laudo de Cepas de *Salmonella enterica* doada pelo Laboratório de Microrganismos de Referência do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS), da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ).



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde



Coleção de Microrganismos de Referência em Vigilância Sanitária - CMRVS

Certificado de Análise

Microrganismo: *Salmonella enterica*

Número INCQS: P2754

Origem: Alimentos, RJ

Lote: --05P2754

Descrição: Células bacterianas em crioprotetor liofilizadas

Armazenamento: -10°C a -20°C

Data de validade: Indefinida se armazenado na temperatura indicada acima

TESTES REALIZADOS E RESULTADOS:

Teste	Especificações	Resultado
Viabilidade	Para a determinação da UFC/mL são realizadas diluições seriadas, a cepa é inoculada em meio não seletivo, incubada e após o período de incubação as colônias são contadas devendo apresentar contagem $\geq 10^3$	$>10^6$ UFC/ml.
Pureza	As cepas são inoculadas em meio não seletivo e incubadas a 25°C e 37°C. O exame macroscópico das colônias em placa e microscópico das células devem apresentar características morfológicas e morfo-tintoriais compatíveis com a espécie e ausência de contaminantes. Em caso de anaeróbios estritos os meios não devem apresentar crescimento	Aprovado
Autenticação	Foram realizados testes fenotípicos de coloração de Gram e respiração. A cepa deve apresentar compatibilidade da espécie para todos os testes realizados.	Aprovado

REFERÊNCIAS: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology volume 1 (2001), 2 (2005), 3 (2009), 4 (2011) e 5 (2012). Springer, New York.

Ivano de Filippis - Curador
Data: 13 de julho de 2021

Av. Brasil, 4365 Manguinhos CEP 21040-900 Rio de Janeiro RJ Brasil
Tel (21) 3865-5151 Fax (21) 2290-0915

www.incqs.fiocruz.br

POP 65.3230.045 – Anexo C – Ver. 02
Classificação: 542