



OS MECANISMOS DE RESISTÊNCIA BACTERIANA DA *Salmonella* sp. FRENTE À UTILIZAÇÃO DE ANTIBIÓTICOS

Natália Menezes Moreira¹, Marília Cristina Sola², Janaina Costa Feistel², Julierme José de Oliveira¹, Fernanda Antunha de Freitas¹

¹Mestranda, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil

²Doutoranda, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil

menezes.veterinaria@gmail.com/menezes_naty@hotmail.com

Recebido em: 06/05/2013 – Aprovado em: 17/06/2013 – Publicado em: 01/07/2013

RESUMO

A resistência bacteriana a antibióticos está se tornando uma questão preocupante para pesquisadores e agências de saúde em todo o mundo, visto o uso abusivo de drogas antimicrobianas tanto na medicina veterinária quanto humana. Desse modo, bactérias patogênicas, em especial aquelas pertencentes ao gênero *Salmonella* sp. utilizam diferentes mecanismos e elementos para realizar a troca de informação genética promovendo assim a disseminação da resistência. Os mecanismos responsáveis pela transferência de genes entre bactérias referentes à mesma geração são a transdução, transformação e conjugação, e os principais elementos genéticos envolvidos são os plasmídeos, integrons e transposons. Portanto, é extremamente importante que seja compreendido todo o processo que permeia a determinação de resistência a antibióticos em *Salmonella* sp. visto a importância deste gênero bacteriano para a saúde pública.

PALAVRAS-CHAVE: genes, resistência, *Salmonella* sp., transferência.

THE MECHANISMS OF BACTERIAL RESISTENCE OF *Salmonella* sp. FORWARD THE USE OF ANTIBIOTICS

ABSTRACT

Bacterial resistance to antibiotics becomes increasingly a matter of concern for researchers and health agencies around the world, seen the overuse of antibiotics in both veterinary and human. Thus, pathogenic bacteria, especially those belonging to the genus *Salmonella* sp. use different mechanisms and elements to perform the exchange of genetic information promoting the spread of resistance. The mechanisms responsible for the transfer of genes between bacteria related to the same generation are transduction, transformation and conjugation, and the main genetic elements involved are plasmids, integrons and transposons. Therefore, it is important that it be understood the entire process of determining antibiotic resistance in *Salmonella* sp. seen the importance of this bacterial genus to public health.

KEYWORDS: genes, resistance, *Salmonella* sp., transfer.

INTRODUÇÃO

Acredita-se que o uso abusivo de antibióticos tanto na medicina veterinária quanto na medicina humana por muitos anos tem causado grande impacto na saúde pública, já que os micro-organismos patogênicos são extremamente dinâmicos e constantemente alteram seu fenótipo como mecanismo de adaptação às mudanças do meio ambiente.

Frente ao constante uso de drogas antimicrobianas, as bactérias são capazes de desenvolver alternativas para que seja garantida a sua sobrevivência e das gerações seguintes, adquirindo o perfil de resistentes à ação desses fármacos.

De acordo com a Organização Mundial de Saúde, resistência antimicrobiana é a capacidade do micro-organismo de interromper um determinado agente antimicrobiano de atuar sobre ele, resultando assim em tratamentos ineficazes, infecções persistentes e a possibilidade de transmitir essa característica a outros micro-organismos (WHO, 2012).

Para tanto, as bactérias, em especial as pertencentes ao gênero *Salmonella*, estão expostas a uma variedade de elementos genéticos que transportam genes de resistência dispersos por todo reino bacteriano, bem como mecanismos necessários para a recombinação desses genes (BENNETT, 1999).

Diante da importância assumida pela transferência gênica dentro dos processos evolutivos e epidemiológicos de cepas de *Salmonella*, buscou-se caracterizar os principais elementos genéticos bem como os mecanismos de aquisição e transferência de genes de resistência a antibióticos. Além disso também foi abordado de forma objetiva os mecanismos de resistência e seu impacto causado em saúde pública, salientando a importância da ação de vigilância epidemiológica.

REVISÃO DE LITERATURA

Gênero Salmonella

O gênero *Salmonella* é dividido em duas espécies, *Salmonella enterica* e *Salmonella bongori* (CDC, 2011), pertencente à família *Enterobacteriaceae*, sendo classificado como bastonetes Gram-negativos, não formadores de esporos, anaeróbios facultativos e oxidase negativos (SILVA et al., 2007). A espécie *Salmonella enterica* é subdividida em seis subespécies, onde aproximadamente 99.5% dos sorovares mais comumente isolados pertencem à subespécie *enterica* (FERREIRA & CAMPOS, 2008).

Diversos sorovares são associados a infecções em animais e humanos, responsáveis por altas taxas de morbidade em todo o mundo e altos índices de mortalidade principalmente em países mais pobres (SÁNCHEZ-VARGAS et al., 2011).

A dispersão de *Salmonella* sp. no ambiente natural é associada à produção intensiva de alimentos de origem animal, onde os produtos avícolas destacam-se como os principais reservatórios do patógeno, sendo responsáveis por toxinfecções alimentares em humanos (D'AOUST & MAURIER, 2007).

A maioria dos casos de salmonelose em humanos provoca gastroenterite autolimitante caracterizada por diarreia, febre e cólicas abdominais, não sendo necessário a utilização de terapia antimicrobiana (BOXSTAEEL et al., 2012). Entretanto em casos severos de infecções sistêmicas é necessário a administração de antibióticos, sendo utilizado por muitos anos ampicilina, sulfametoxazol-trimetoprim e cloranfenicol (DE SOUZA et al., 2010).

Em virtude de cepas resistentes a esses agentes, o tratamento desta doença sofreu modificações sendo o grupo das fluoroquinolonas e terceira geração de cefalosporinas, os tratamentos de escolha (WHO, 2005).

Transferência genética e recombinação

Com o aumento do sequenciamento genético de diversos organismos e o advento da biologia molecular, rastrear o aparecimento, desaparecimento e reaparecimento de genes em bactérias proximamente relacionadas tornou-se possível (PORWOLLIK & McCLELLAND, 2003). Dentre os vários gêneros bacterianos existentes, *Salmonella* é um importante objeto de estudos nessa área, pois apresenta alta variabilidade genética, reflexo de uma interação dinâmica entre patógeno, meio ambiente e hospedeiro (LIU et al., 2011).

A variação genética em *Salmonella* sp. é responsável pela codificação de estruturas como os lipopolissacarídeos e flagelos bem como a expressão de genes de virulência específicos e genes de resistência a antimicrobianos, que conferem proteção ao patógeno. Dessa maneira o polimorfismo genético característico dos micro-organismos é consequência direta da presença desse tipo de estrutura, pois são alvos do sistema imune do hospedeiro (FIERER & GUINEY, 2001).

Diante disso, verifica-se a necessidade de compreensão dos processos evolutivos e epidemiológicos dessas populações bacterianas, para que seja possível traçar e avaliar o impacto de ações dentro de um programa de controle de doenças, como por exemplo, a utilização adequada de determinado antibiótico (HANAGE et al., 2006).

Nesse sentido, a recombinação genética, que se refere à troca de genes entre duas moléculas de DNA para formar novas combinações em um cromossomo, é considerada a fonte da variação evolutiva da maioria dos procaríotos (DIDELLOT & MAIDEN, 2010; TORTORA et al., 2012). Além disso, esse evento possui papel essencial na preservação da integridade genética por meio da reparação de possíveis falhas no DNA bacteriano (CONLEY, 1992).

Os genes codificadores de antígenos em *Salmonella* são altamente propensos à recombinação e transferência gênica horizontal de modo que antígenos similares podem ser encontrados em cepas distantemente relacionadas (LI et al., 1994).

Existem duas maneiras pelas quais as bactérias podem transferir seu material genético. Na transferência gênica vertical, os genes são passados de um micro-organismo para seus descendentes. Na transferência gênica horizontal, os genes podem ser adquiridos de outros micro-organismos da mesma geração. Esse fenômeno envolve uma célula doadora que contribui parte de seu genoma para uma célula receptora, que pode ser de uma espécie ou até mesmo de um gênero diferente (BAUMAN, 2009). Após a transferência, parte do DNA da doadora é incorporado ao DNA da receptora, que passa a ser denominada de recombinante, e o restante é degradado por enzimas (TORTORA et al., 2012).

Alguns genes adquiridos horizontalmente podem proporcionar efeitos deletérios à célula bacteriana que os recebeu. Dessa maneira, essa bactéria será eliminada da população ao qual está inserida, da mesma maneira que mutações deletérias são perdidas, já que são eventos prejudiciais a sobrevivência do micro-organismo. Por outro lado, genes que conferem ao patógeno vantagem seletiva em relação ao hospedeiro têm o potencial de serem rapidamente espalhados dentro da população bacteriana (THOMAS & NIELSEN, 2005).

Existem três mecanismos pelos quais é possível ser realizada a transferência gênica horizontal: transdução, transformação e conjugação (CONLEY, 1992; PORWOLLIK & McCLELLAND, 2003; THOMAS & NIELSEN, 2005; TENOVER, 2006; BAUMAN, 2009; TORTORA et al., 2012). Além disso, existem mecanismos adicionais para a modificação genética das bactérias, os chamados elementos genéticos móveis, cuja presença é associada a genes codificadores de funções que podem proporcionar vantagem para a sobrevivência dos micro-organismos (VAN ELSAS & BAILEY, 2002). Plasmídeos, transposons e integrons são os mais conhecidos (YANG et al., 2009).

No gênero *Salmonella*, a presença de tais elementos é frequentemente estudada e associada a genes de resistência a antimicrobianos, sendo geralmente referida como ilhas de resistência antimicrobiana. Desta forma estes elementos são importantes indicativos do desenvolvimento e distribuição desse mecanismo entre os diversos sorovares de *Salmonella* (MIRIAGOU et al., 2006).

Transdução

A transdução é um mecanismo de transferência gênica entre bactérias mediada por bacteriófagos (fagos), que são vírus especializados em infectar células bacterianas (TENOVER, 2006).

Existem dois mecanismos pelos quais os fagos interagem com as bactérias: ciclos lítico e lisogênico. No ciclo lítico, os vírus infectam as células por meio da introdução do genoma viral e produzem novos fagos causando a lise das mesmas (KELLY et al., 2009b). Após a injeção do material genético viral, a célula é impedida de realizar autorreplicação e inicia a produção de proteínas catalíticas e estruturais responsáveis por replicar o DNA do fago, montar a cabeça dos novos fagos e empacotar o material genético. Por fim, as novas partículas de bacteriófagos produzidas são liberadas por meio da produção de lisozimas que rompem a parede celular bacteriana para então infectar outras células suscetíveis (QUINN et al., 2011; TORTORA et al., 2012). No ciclo lisogênico, o DNA do fago é incorporado ao DNA bacteriano (profago), promovendo a recombinação gênica da célula bacteriana receptora, sem causar lise. Neste caso são conhecidos como fagos temperados cuja ocorrência no gênero *Salmonella* é bem reconhecida, principalmente os pertencentes à família P22 (MMOLAWA et al., 2002).

Os bacteriófagos possuem alta especificidade com as bactérias que infectam. Essa propriedade existe devido às estruturas especializadas que reconhecem componentes presentes na superfície da célula receptora, como proteínas e lipopolissacarídeos (BRABBAN et al., 2005).

No momento em que o material genético do bacteriófago é introduzido, o tipo de transdução varia dependendo da biologia do fago e do ambiente celular (BRABBAN et al., 2005). Na transdução generalizada, todos os genes contidos dentro de uma célula infectada, sejam eles pertencentes ao DNA cromossômico, plasmidial ou até mesmo de outro vírus podem ser empacotados junto ao DNA do fago dentro do capsídeo proteico e transferidos a outras bactérias após a lise. Entretanto, na transdução especializada somente genes bacterianos específicos são transferidos, independente de sua localização, sendo considerado um processo mais eficiente (TORTORA et al., 2012).

Os bacteriófagos portanto são considerados um importante meio pelo qual os micro-organismos se adaptam a novos ambientes de forma mais permanente. Tal característica oferece vantagem seletiva as bactérias patogênicas e

consequentemente maior impacto em saúde pública, principalmente em relação a transdução de genes de resistência a antimicrobianos (DE LA CRUZ & DAVIES, 2000).

Nos últimos anos o aumento de sorovares multirresistentes pertencentes ao gênero *Salmonella*, como Typhimurium e Newport, tem sido objeto de estudos por causarem graves implicações na saúde humana. Particularmente, o sorovar Typhimurium fagotipo DT 104 causa grande preocupação na comunidade científica, pois comumente apresenta um agrupamento gênico codificado para resistência a cinco antibióticos: ampicilina, cloranfenicol, estreptomicina, sulfonamida e tetraciclina – ACSSuT (HUR et al., 2012). Os genes responsáveis por essa característica estão associados a dois integrons diferentes. O primeiro transporta o gene *aadA2* codificado para a resistência a estreptomicina e espectinomicina; o segundo possui o gene *bla_{PSE-1}* responsável pela produção de β -lactamase (RIDLEY & THRELFALL, 1998). Outros genes relacionados a resistência a tetraciclina e cloranfenicol estão localizados em integrons que também conferem resistência a todos os outros antibióticos, agrupados em um *locus* cromossômico de aproximadamente 12.5 Kb (CLOECKAERT & SCHWARZ, 2001).

Em um estudo conduzido com cepas de *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium fagotipo DT104, foi demonstrado a transferência dos genes *amp*, *tet*, *str*, *cam* e *sul* mediado pelos bacteriófagos P22, ES18 e PDT17. Além disso todas as cepas abrigavam o profago PDT17 demonstrando a capacidade desse fagotipo em transportar um importante vetor para a transferência de resistência a antibióticos e consequentemente contribuir para a dispersão dessa característica (SCHMIEGER & SCHICKLMAIER, 1999). De forma semelhante, SCHICKLMAIER et al. (1998) constataram que 87.8% das cepas de *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium isoladas de bovinos, equinos, cães e gatos liberaram profagos que estavam integrados ao genoma bacteriano.

ZHANG & LeJEUNE (2008) ao analisarem 31 cepas de *Salmonella* isoladas de bovinos infectados, encontraram 19 contendo fagos lisogênicos, demonstrando a presença desse veículo de transferência gênica em cepas naturais pertencentes a diversos sorovares. Em uma outra etapa do estudo, os pesquisadores reproduziram a transdução dos genes de resistência *bla_{CMY-2}*, *tet(A)* e *tet(B)* que conferiram resistência a β -lactâmicos e tetraciclina, do sorovar Heidelberg ao sorovar Typhimurium via fago P24. Os resultados demonstraram a capacidade de infecção desse fago em diferentes sorovares, o que pode facilitar a troca gênica entre as bactérias do gênero.

Um fenômeno conhecido que ocorre pela ação de um bacteriófago temperado é a conversão lisogênica. No momento em que há a introdução de material genético e ocorre a indução do estado de profago, este geralmente confere imunidade a célula bacteriana hospedeira à infecção por um fago igual ou semelhante (BRABBAN et al., 2005; KELLY et al., 2009b). Isso é possível devido a ação de proteínas repressoras de origem viral que também são responsáveis por evitar a ativação do ciclo lítico (TUCKER & HEUZENROEDER, 2004). Entretanto, se genes adicionais forem transferidos poderá haver alteração no fenótipo da bactéria, incluindo a possibilidade de mudança na suscetibilidade da cepa ao fago, o que também acarreta em mudanças na epidemiologia bacteriana (MAJTÁNOVÁ & MAJTÁN, 2009).

Além disso, outro evento que ocorre com os profagos se realiza diante de circunstâncias estressantes à bactéria hospedeira, acarretando na interrupção das proteínas repressoras e iniciando um ciclo lítico. Assim os novos bacteriófagos

buscam outras células que ofereçam melhores condições à sua sobrevivência, sendo um importante fator de rearranjo genético que origina novas cepas emergentes, principalmente do gênero *Salmonella* que são conhecidas por abrigarem diversos profagos integrados ao seu genoma (GARCIA-RUSSELL et al., 2009).

Transformação

A transformação é o processo pelo qual a bactéria é capaz de realizar recombinação genética por meio da absorção ativa de DNA extracelular proveniente de diversas fontes como cromossomos, plasmídeos e fagos, dispersos no ambiente. Para tanto é necessário que a bactéria esteja em estado de competência, cujas alterações fisiológicas permitem a captação do DNA doador (BRIGULLA & WACKERNAGEL, 2010). Assim, se o DNA livre for composto por genes de resistência a antibióticos, a célula receptora provavelmente adquire a resistência correspondente, caso a integração ao material genético seja eficiente (FOLEY & LYNNE, 2008). Portanto, os requisitos necessários para que ocorra a transformação natural é a liberação e persistência do DNA doador no ambiente, a presença de uma célula receptora competente e por fim a capacidade de integração ao DNA receptor (KELLY et al., 2009b).

Certas espécies de bactérias como *Bacillus subtilis* e *Acinetobacter* são naturalmente competentes e captam DNA exógeno de qualquer fonte, promovendo a recombinação gênica de forma eficiente. Outras bactérias como *Neisseria gonorrhoeae* e *Haemophilus influenzae* captam DNA somente de outras fontes pertencentes a espécies iguais ou semelhantes (KELLY et al., 2009a).

A competência natural para captação de DNA livre no ambiente não é conhecida no gênero *Salmonella* (O'CALLAGHAN & CHARBIT, 1990; SCHMIEGER & SCHICKLMAIER, 1999; McCUDDIN et al., 2006). Tal mecanismo é reproduzido em condições laboratoriais por meio da indução artificial de competência em cepas de *Salmonella* (O'CALLAGHAN & CHARBIT, 1990). Além disso, diversos estudos com enfoque em transferência de genes de resistência fazem uso do mecanismo de transformação entre cepas de *Salmonella* e espécies bacterianas naturalmente competentes (POPPE et al., 2005; MICHAEL et al., 2008; MENG et al., 2011).

Em um estudo conduzido por O'CALLAGHAN & CHARBIT (1990) foi testada a indução de competência de cepas de *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium e *Salmonella enterica* sorovar Typhi em captar DNA proveniente do plasmídeo pBR322 contendo um gene responsável por resistência a ampicilina. Foi utilizada a técnica de eletroporação cujo objetivo é promover a fragilidade da membrana celular por meio de pulsos elétricos permitindo a captação de DNA exógeno, sem danificar o fenótipo bacteriano. Como resultado, as cepas de *Salmonella* tornaram-se competentes e passaram a expressar o gene de resistência.

Recentemente, em uma pesquisa desenvolvida na China com cepas de *Salmonella* provenientes de diversas matrizes alimentares foi avaliada a capacidade de transferência de genes de resistência via transformação bacteriana. Foram selecionados integrons de classe 1 de duas cepas de *Salmonella*, um contendo os genes *dfrA1* e *aadA1* resistentes ao trimetoprim e estreptomicina; e outro contendo os genes *aadB* e *cmlA* resistentes a aminoglicosídeos (kanamicina e gentamicina) e cloranfenicol respectivamente. Os genes foram transferidos via transformação natural a uma cepa de *Streptococcus mutans* com sucesso, demonstrando assim o risco potencial de transferência de genes de resistência de cepas de *Salmonella*

presentes em diversos alimentos à microbiota residente em seres humanos (MENG et al., 2011).

Conjugação

A conjugação é um mecanismo de transferência gênica entre bactérias no qual contrariamente à transformação, existe a necessidade de um contato entre a célula doadora de material genético e a célula receptora. Esse processo é orientado por elementos genéticos móveis que transportam genes responsáveis pela codificação de funções para sua própria transferência a outras bactérias hospedeiras, além de outras atividades como resistência a antimicrobianos (THOMAS & NIELSEN, 2005; KELLY et al., 2009b). Por isso, a conjugação frequentemente é associada a plasmídeos, pequenos elementos genéticos que se multiplicam independentemente do cromossomo da célula bacteriana (TORTORA et al., 2012).

O processo é mediado por um *pili* conjugativo (*pili* sexual), uma estrutura proteica semelhante a uma haste que auxilia na união das células. O plasmídeo F ou Fator F contém o gene codificador do *pili*, onde células F⁺ são doadoras de material genético e células F⁻ por não possuírem o Fator F são receptoras (BAUMAN, 2009).

Após o contato inicial entre as duas células bacterianas, as membranas celulares se fundem promovendo estabilidade. Uma cópia de fita simples do DNA plasmidial é transferida a partir de uma sessão denominada origem de transferência, para a célula receptora. Dessa maneira, esta célula sintetiza uma cópia complementar da fita de DNA recém-recebida, se tornando também uma célula F⁺ (BAUMAN, 2009). Em algumas células que transportam o plasmídeo F, ocorre a recombinação entre esse fator e o cromossomo bacteriano, havendo a conversão para uma célula Hfr (alta frequência de recombinação). Assim, quando uma célula Hfr se conjuga a uma F⁻, o cromossomo da doadora se replica a partir do ponto de integração do Fator F e é transferido para a receptora. Consequentemente, esta célula pode adquirir novas versões de genes cromossômicos, caso haja uma recombinação gênica eficiente com o DNA doador (TORTORA et al., 2012). Deste modo, pela complexidade que permeia o sistema de conjugação, é possível transferir entre duas bactérias não somente um plasmídeo completo, mas sequências extensas de quaisquer elementos genéticos, desde que estejam integrados fisicamente à sessão da origem de transferência (THOMAS & NIELSEN, 2005).

A conjugação é considerada o principal processo de disseminação de genes de resistência a antibióticos entre as populações bacterianas (ROWE-MAGNUS & MAZEL, 1999). No gênero *Salmonella*, diversos estudos reproduzem a conjugação com o objetivo de confirmarem a expressão de genes de resistência, associado a determinação da sua localização, permitindo assim melhor compreensão da dinâmica de dispersão de resistência a antibióticos (GEBREYES & ALTIER, 2002; CARATTOLI, 2003; MICHAEL et al., 2008; DAHSHAN et al., 2010; MENG et al., 2011; THONG & MODARRESSI, 2011).

A transferência gênica horizontal via conjugação entre cepas bacterianas pertencentes a espécies diferentes foi confirmada por DAHSHAN et al. (2010). Os pesquisadores avaliaram tal mecanismo entre uma cepa de *Salmonella* enterica sorovar Stanley que carregava um plasmídeo de 210 Kb contendo um integron de classe 1, e uma cepa de *Escherichia coli* que agiu como receptora. A conjugação foi eficaz, havendo a transferência total do plasmídeo, onde a cepa receptora passou a

expressar os genes *bla*_{TEM}, *catA*, *aadA2*, *sul1*, *tetA*, *dfrA12*, e *aphA1* resistentes a ampicilina, cloranfenicol, estreptomicina, sulfametoxazol, oxitetraciclina, trimetoprim e kanamicina respectivamente. O resultado demonstra a possibilidade de transferência de genótipos de *Salmonella* multirresistentes entre diferentes bactérias presentes em animais ou no meio ambiente, causando sérias implicações clínicas e epidemiológicas na medicina humana e veterinária.

De forma similar McCUDDIN et al. (2006) objetivaram avaliar a conjugação entre espécies bacterianas diferentes, porém, associada a possível influência da presença de protozoários ruminais, em bovinos, caprinos e ovinos. Foram selecionados como doador uma cepa de *Klebsiella pneumoniae*, contendo um plasmídeo com gene de resistência, e como receptor uma cepa de *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium. Os resultados mostraram uma influência positiva dos protozoários ruminais no mecanismo de conjugação, em que a cepa receptora passou a expressar de forma idêntica à cepa doadora, o gene *bla*_{CMY-2}, com capacidade de produzir β -lactamase e conferir resistência ao ceftriaxone.

A presença de sorovares multirresistentes em animais destinados ao consumo humano é uma ameaça constante a saúde pública. Em um estudo realizado por MICHAEL et al. (2008), foram isoladas cepas de *Salmonella enterica* sorovar Bredeney de suínos abatidos em dois frigoríficos no Rio Grande do Sul. Foram identificados a presença de genes de resistência como *sul1*, *sul2* e *sul3* (sulfonamida); *bla*_{TEM} (ampicilina); *aphA1* (kanamicina); *strA* (estreptomicina) bem como a capacidade de transferência destes por meio de plasmídeos conjugativos.

THONG & MODARRESSI (2011) também realizaram um experimento focado na identificação do perfil de multirresistência de *Salmonella*. Os pesquisadores avaliaram carne de aves e bovinos cruas comercializadas em supermercados e mercados livres bem como alimentos prontos derivados de aves e bovinos em restaurantes na Malásia. Encontraram 67% dos isolados com fenótipo multirresistente, contendo diversos genes que conferiram resistência a antibióticos como sulfonamida, ácido nalidíxico, sulfametoxazol-trimetoprim, ampicilina e cloranfenicol. Tais genes foram localizados em integrons presentes em plasmídeos conjugativos, demonstrando a necessidade do entendimento e acompanhamento dos mecanismos genéticos responsáveis pela dispersão de resistência a antibióticos entre patógenos de origem alimentar, principalmente a *Salmonella*.

Integrons

Integrons são definidos como unidades genéticas que possuem um sistema de recombinação sítio-específica por meio da reorganização dos ORF's (*Open Reading Frames*) presentes em cassetes gênicos, convertendo-os em genes funcionais (CAMBRAY et al., 2010). Geralmente os integrons possuem o gene *intI* responsável por codificar integrase além de um sítio de recombinação denominado *attI* em que são inseridos os cassetes gênicos (PARTRIDGE et al., 2009). Os cassetes são discretos elementos móveis livres, encontrados normalmente como sequências lineares constituindo moléculas de DNA maiores como plasmídeos e cromossomos bacterianos, frequentemente associados ao transporte de genes de resistência a antibióticos (BENNETT, 1999). Normalmente os cassetes possuem um único gene associado a uma sequência de recombinação denominada elemento de 59 pb (59-be ou *attC*) (ROWE-MAGNUS & MAZEL, 1999). Vários cassetes podem ser capturados em conjunto pelo mesmo integron, e sua inserção ou excisão é determinada por meio da recombinação realizada pela integrase entre *attI* e/ou

qualquer outro sítio-específico (PARTRIDGE et al., 2009).

Os integrons são divididos em classes de acordo com a sequência de aminoácidos presentes na integrase (IntI). Existem cinco classes de integrons que carregam cassetes codificadores de resistência a antibióticos, onde no gênero *Salmonella* são associados somente integrons de classe 1 e 2 (FLUIT & SCHMITZ, 2004; MAZEL, 2006).

Em diversos sorotipos de *Salmonella*, os integrons possuem muitos cassetes gênicos conhecidos que transportam genes como *aadA1*, *aadA2*, *aadA4* e *aadA5* (conferem resistência a estreptomicina e espectinomicina); *bla_{OXA-30}* e *bla_{PSE-1}* (resistência a ampicilina); *dfrA1*, *dfrA7*, *dfrA12* e *dfrA17* (resistência ao trimetoprim). Estão frequentemente associados a transposons e plasmídeos conjugativos, contribuindo para a dispersão dessa característica via transferência horizontal (VAN et al., 2012).

Diversos elementos genéticos responsáveis por conferir múltipla resistência a antibióticos em *Salmonella* localizam-se na Ilha Genômica 1 de *Salmonella* (do inglês *Salmonella Genomic Island*, SGI-1), uma região de 43 kb contendo um agrupamento gênico que codifica a resistência (KELLY et al., 2009b). Esse agrupamento gênico de aproximadamente 13 kb é composto de complexos integrons de classe 1 (DOUBLET et al., 2005), frequentemente transferidos entre cepas de *Salmonella* por meio de conjugação, com o auxílio do plasmídeo R55 (KELLY et al., 2009b).

Vários estudos apontam para a frequente presença de integrons de classe 1 em diferentes sorotipos de *Salmonella* que apresentam fenótipos multirresistentes. WANG et al. (2010) avaliaram 187 cepas de *Salmonella enterica* sorovar Schwarzengrund coletadas de aves e suínos abatidos em Taiwan. Os resultados mostraram que 84.49% apresentaram integrons de classe 1 contendo cassetes gênicos clássicos como *aadA2* (resistência a estreptomicina); *dfrA1* (resistência ao trimetoprim) e *bla_{PSE-1}* (resistência a ampicilina), além de seis isolados positivos para SGI-1. Outro dado importante foi a relação clonal entre 13 isolados resistentes ao ciprofloxacino (fluoroquinolona) com a mesma mutação na região QRDR (Região Determinante de Resistência a Quinolona) provenientes tanto de suínos quanto de aves. Isso demonstra a possibilidade de contaminação cruzada entre os animais na fazenda ou em propriedade vizinhas contaminadas e conseqüentemente o risco da transmissão dessas bactérias para os seres humanos, visto a utilização das fluoroquinolonas como tratamento de escolha em casos de salmonelose invasiva no homem.

De forma similar, outro estudo conduzido em Taiwan analisou 93 cepas de *Salmonella enterica* sorovar Choleraesuis, provenientes de humanos e suínos. Investigou-se a presença de integrons de classe 1, 2 e 3, onde somente integrons de classe 1 foram encontrados em 71 cepas: 78.3% (humanos) e 74.5% (suínos). Estavam contidos em plasmídeos conjugativos, transportando cassetes gênicos *dfr12-orfF-aadA2* que conferiram resistência a sulfametoxazol, estreptomicina, espectinomicina e trimetoprim. Além disso foi encontrado também somente em cepas isoladas de humanos um cassete contendo o gene *aadA22* codificador de aminoglicosídeo-adeniltransferase o qual conferiu alta resistência a estreptomicina e espectinomicina (LEE et al., 2009).

ANTUNES et al. (2005) ao investigarem 200 cepas de *Salmonella* resistentes a sulfonamida em Portugal provenientes de animais, humanos, alimentos e meio ambiente, observaram 75% dos isolados contendo integrons de classe 1 e 3% contendo integrons de classe 1 e 2. O gene mais frequentemente detectado foi o

sul1 (76% dos isolados), porém também foi encontrado os genes *sul2* e *sul3*. Os resultados parecem ser reflexo da intensa utilização de sulfonamida na produção de animais destinados ao consumo humano em Portugal, principalmente na suinocultura.

Um estudo conduzido por AJIBOYE et al. (2009) nos Estados Unidos, objetivou avaliar a dispersão de elementos genéticos móveis responsáveis pela codificação de resistência a antibióticos em *Salmonella* e *Escherichia coli*. Detectou-se a presença de integron de classe 1 em 28% das cepas de *E.coli* isoladas de animais; 72% das cepas de *Salmonella* isoladas de humanos e animais e 49% das cepas de *E.coli* isoladas de mulheres com infecção no trato urinário, onde a maioria abrigava cassetes gênicos. Os genes mais frequentes pertenciam a família *aadA* e *dfrA* que codificam resistência a estreptomicina e trimetoprim respectivamente. A sequência de cassetes *dfrA12-orfF-aadA2* pertencentes as cepas de *E.coli* se mostrou 100% idêntica aos cassetes encontrados em cepas de *Salmonella* presentes em frutos do mar importados nos EUA; *Aeromonas* isoladas em um surto de origem alimentar em Taiwan; *Acinetobacter* isolados de amostras clínicas de humanos na China; *E.coli* enteroinvasiva isoladas no Japão e *Klebsiella pneumoniae* isoladas na China. Os resultados demonstram uma situação preocupante no qual a dispersão de resistência a antibióticos ocorre entre animais e humanos em todo o mundo, não somente pela presença de cepas resistentes mas também por troca de genes entre elas, pertencentes a espécies e gêneros diferentes.

Plasmídeos

Os plasmídeos são pequenos elementos genéticos circulares, formados por cadeia dupla de DNA, localizados no citoplasma da célula bacteriana que podem se replicar de forma independente. Variam em tamanho, mas geralmente não ultrapassam mais do que um décimo do tamanho do DNA cromossomal e possuem diversos genes que conferem diversas propriedades à bactéria (QUINN et al., 2011). Possuem de cinco a cem genes que não são vitais à sobrevivência da célula em condições normais, sendo perdidos e adquiridos sem causar dano, mas que conferem vantagens como a codificação de tolerância a metais pesados e resistência a antibióticos (TORTORA et al., 2012).

A transferência do plasmídeo pode ocorrer sob duas formas. Na primeira, o plasmídeo é replicado no momento em que a bactéria realiza autorreplicação e cada célula-filha recebe uma cópia do DNA plasmidial. A segunda forma envolve o processo de conjugação entre uma célula doadora e outra receptora da molécula de DNA plasmidial replicado, já abordado anteriormente (PADILLA & DA COSTA, 2000). Além disso, a transferência de plasmídeos também pode ocorrer por transdução onde existe a necessidade de múltiplas replicações do DNA plasmidial para que seja possível de ser empacotado pelos novos fagos, ou por transformação, entretanto o mecanismo mais eficiente é realmente a conjugação (BRIGULLA & WACKERNAGEL, 2010).

Os fatores R (fatores de resistência) são plasmídeos de grande importância clínica e epidemiológica já que podem intermediar a transferência de resistência a antimicrobianos entre bactérias que são resistentes para outras que não são. Esses plasmídeos normalmente carregam um grupo de genes responsáveis pela resistência (determinante r) cuja função é inativar a ação de determinada droga, e outro grupo que controla o processo de replicação e conjugação denominado fator de

transferência de resistência – FTR (TORTORA et al., 2012).

Em uma pesquisa conduzida por LÁZARO et al. (2004) avaliando cepas de *Salmonella* isoladas de suínos sadios e do ambiente de abate no estado do Rio de Janeiro observou-se a presença de um plasmídeo R de 63 kb contendo genes de resistência para sulfonamida, estreptomicina e tetraciclina. Somente uma cepa pertencente ao sorovar Typhimurium foi capaz de transferir via conjugação os três marcos para uma cepa de *Escherichia coli* que agiu como receptora. Seis isolados pertencentes ao sorovar Muenster não foram capazes de realizar a transferência e uma cepa do sorovar Derby foi capaz de transferir somente resistência à estreptomicina e tetraciclina. Os autores chamaram a atenção para a probabilidade da existência de determinantes dessa resistência ligados ao cromossomo ou até mesmo a ausência de fatores de transferência, impossibilitando que os genes fossem transferidos via plasmídeos por essas cepas doadoras.

Vários estudos têm reproduzido experimentalmente a transferência de genes de resistência entre sorovares de *Salmonella* e outras espécies bacterianas via plasmídeos conjugativos. Algumas famílias de plasmídeos são altamente prevalentes em enterobactérias emergindo em conjunto com genes de resistência clinicamente importantes (CARATTOLI, 2011). Um exemplo importante desse fenômeno é a presença frequente de genes codificadores de β -lactamase em diversos no gênero *Salmonella* que conferem resistência as diferentes classes de β -lactâmicos (ZIOGA et al., 2008; SHAHADA et al., 2010). Dessa maneira, as bactérias Gram-negativas produzem diversas betalactamases de origem cromossômica e plasmidiais, reflexo da troca frequente desses genes entre as cepas (JUNIOR et al., 2004).

SHAHADA et al. (2010) realizaram a caracterização molecular de isolados de *Salmonella enterica* sorovar Infantis provenientes de aves no Japão com fenótipos multirresistentes. O principal resultado foi a presença de 32 cepas portadoras do gene *bla*_{TEM} localizados em dois plasmídeos, um de 180 kb e outro de 50 kb, que codificaram β -lactamase. O gene foi responsável por conferir resistência a ampicilina, cefalotina, ceftazidime e cefotaxime (ambos cefalosporinas de 3ª geração). Os autores alertaram para a necessidade de caracterização deste gene derivado a partir do gene *bla*_{TEM-1} que possibilitou a resistência contra cefalosporinas de espectro-estendido.

De forma semelhante, ZIOGA et al. (2008) apresentaram a existência simultânea do gene *bla*_{CMY-2} codificador de β -lactamase no cromossomo e em plasmídeo conjugativo de cepas de *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium, responsáveis por conferir resistência a cefalosporinas de espectro-estendido.

Diversos sorovares multirresistentes de *Salmonella* possuem plasmídeos contendo diferentes elementos genéticos, principalmente integrons, componentes fundamentais na dispersão dessa característica entre as cepas (FOLEY & LYNNE, 2008).

YE et al. (2011) demonstraram a diversidade de elementos genéticos móveis envolvidos na codificação de resistência a antibióticos em cepas de *Salmonella enterica* sorovar Choleraesuis isoladas de sete pacientes tratados com salmonelose invasiva. O alvo da pesquisa foi a análise completa do plasmídeo pSC138 cuja composição incluiu dois integrons, sete sequências de inserção, oito transposons além de um profago incompleto, presentes em todas as cepas analisadas. O gene *bla*_{CMY-2} que confere resistência ao ceftriaxone, uma cefalosporina de 3ª geração utilizada nos casos de bacteremia por *Salmonella* foi um dos principais envolvidos.

Transposons

Transposons são segmentos de DNA considerados “genes saltadores” por possuírem a capacidade de mudar sua localização, devido a presença do gene transposase, podendo estar presentes no cromossomo bacteriano ou plasmídeo (KELLY et al., 2009b). A transposase é uma enzima que corta as extremidades do DNA de um elemento transponível e o adere à molécula de DNA alvo ao qual deve ser inserido. Dessa maneira todo transposon contém a informação para sua própria transposição (THOMAS & NIELSEN, 2005).

Transposons simples são denominados sequências de inserção (SI), pois contém somente um gene que codifica a transposase e sítios de reconhecimento. Esses sítios são sequências curtas de DNA repetidas e invertidas que a enzima reconhece como um local de recombinação entre esse elemento e o cromossomo ao qual está sendo inserido (TORTORA et al., 2012). A maioria dos genomas de *Salmonella* possuem de três a onze sequências de inserção, associados a rearranjo genético no gênero (PORWOLLIK & McCLELLAND, 2003). Entretanto outros tipos de transposons mais complexos transportam genes para outras atividades como resistência a antibióticos. Diversos genes que conferem resistência a sulfonamidas, tetraciclina e β -lactâmicos são encontrados em transposons Tn21, comuns no gênero *Salmonella* (FOLEY & LYNNE, 2008).

PEZELLA et al. (2004) avaliaram cepas pertencentes a diversos sorovares de *Salmonella* isoladas de animais e alimentos na Itália. Observaram neste estudo que 58 cepas apresentaram fenótipos resistentes a pelo menos três antibióticos, onde 98% foram resistentes a tetraciclina e 95% a estreptomicina. Foi detectado a presença do gene *tetA* (resistência a tetraciclina) localizado dentro do transposon Tn1721; os genes *strA* e *strB* (resistência a estreptomicina) estavam localizados em cassetes gênicos presentes em integrons de classe 1, também associados a outros cassetes que continham a combinação de um ou mais dos seguintes genes: *dfrA12* e *dfrA1* (resistência ao trimetoprim); *aadA1*, *aadA2*, e *aadB* (resistência a aminoglicosídeos). Além disso notaram que 12 cepas apresentaram os integrons associados ao transposon Tn21.

Cepas multirresistentes de *Salmonella* estão frequentemente sujeitas a rearranjo genético, devido a dinâmica da bactéria frente à diversidade de hospedeiros e variações do ambiente ao qual se encontram. Em um estudo realizado por DOUBLET et al. (2008) foi investigado a presença da SGI-1 em cepas de *Salmonella enterica* sorovar Kentucky que apresentaram resistência a quinolonas e fluoroquinolonas além de outros antibióticos, isoladas de pacientes que adquiriram salmonelose em viagens pela África. A composição da SGI-1 foi analisada e descobriu-se uma região de deleção de 2780 bp, substituído por uma IS de 1257 bp, que apresentou 99% de compatibilidade com uma IS pertencente à família IS3 encontrada em *Vibrio cholerae*. Além disso foi encontrado a IS26 associada a presença do gene *bla_{TEM-1}* e outros transposons, caracterizando a variante SGI-1 K. Os resultados apontam para a versatilidade da região SGI-1, tão importante na epidemiologia de sorovares multirresistentes que aliada capacidade de transferência horizontal contribuem para a dispersão e permanência dessa característica em bactérias de interesse clínico.

Mecanismos de resistência a antibióticos

O sucesso de um quimioterápico contra um determinado micro-organismo é possível por meio da toxicidade seletiva, onde um agente antimicrobiano deve ser

mais tóxico ao patógeno do que ao hospedeiro. No caso das bactérias, tal característica é possível graças às diferenças estruturais e bioquímicas existentes entre elas e a célula eucariótica do hospedeiro (BAUMAN, 2009). Dentre as principais diferenças, pode-se destacar nas células bacterianas a existência de um único cromossomo disperso no citoplasma que não está circundado por membrana nuclear; presença de ribossomo do tipo 70S, além de parede celular contendo peptidoglicano que confere forma e proteção à célula (CALVO & MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, 2009)

De acordo com a interferência provocada na atividade da célula bacteriana, os antibióticos podem provocar a morte da bactéria (bactericidas), ou somente causar a inibição do seu crescimento (bacteriostáticos). Portanto as intervenções podem ocorrer no nível da parede celular, membrana citoplasmática, ribossomos, DNA e metabolismo intermediário das células bacterianas (TRABULSI, 2000).

Apesar da interferência dos antibióticos, as populações bacterianas sensíveis à ação de drogas podem se tornar resistentes basicamente por dois processos. Primeiro, por mutação espontânea e seleção, em que as bactérias que transportam mutação no material genético que confere resistência sobrevivem ao uso da droga e as sensíveis são eliminadas. Assim, as células resistentes transferem essa característica as células-filhas, caracterizando a evolução ou transmissão vertical (TENOVER, 2006).

Um exemplo atual desse evento que ocorre no gênero *Salmonella* causando grandes implicações em saúde pública são as mutações pontuais no QRDR (Região Determinante de Resistência a Quinolona) (WANG et al., 2010). O alvo das fluoroquinolonas e quinolonas são a DNA girase e topoisomerase IV codificadas pelos genes *gyrA*, *gyrB*, *parC* e *parE* respectivamente. Assim YANG et al. (2012) constataram mutações simultâneas nos genes *gyrA*, *parC* e *parE* provocando altos níveis de resistência a fluoroquinolonas em diversos sorovares de *Salmonella* isoladas de carnes de bovinos, aves e cordeiros comercializadas na China.

Outro processo de desenvolvimento de resistência é a aquisição de genes transportados por bactérias que são resistentes, caracterizando a evolução ou transferência horizontal (TENOVER, 2006).

Destruição ou inativação enzimática da droga

Esse mecanismo é um dos principais e mais frequentes entre bactérias Gram-negativas no qual afeta antibióticos do tipo penicilina, cefalosporinas e também carbapenems que compartilham uma estrutura denominada anel β -lactâmico, alvo das β -lactamases que o inativam (TORTORA et al., 2012). Essas enzimas são codificadas em cromossomos ou em locais extracromossômicos por meio de elementos genéticos como plasmídeos ou transposons, podendo ser produzidas de modo constitutivo ou ser induzido (BRASIL, 2007). Devido ao grande número de bactérias resistentes a esse tipo de antibiótico, foram desenvolvidos β -lactâmicos contendo compostos associados (ácido clavulânico, sulbactam, tazobactam) capazes de inativar as β -lactamases (JUNIOR et al., 2004).

As β -lactamases mediadas por plasmídeos são divididas em três grupos: oxacilinases, que hidrolisam penicilinas e oxacilinas; carbenicilinases que hidrolisam penicilinas e carbenicilinas; e as betalactamases de amplo espectro que inativam penicilinas e cefalosporinas de 3ª geração (TRABULSI & TOLEDO, 2000). Os plasmídeos que transportam o último grupo, geralmente também possuem genes que conferem resistência a aminoglicosídeos, trimetoprim,

sulfonamidas, tetraciclina e cloranfenicol, tornando as cepas multirresistentes (JUNIOR et al., 2004).

Bloqueio da entrada no sítio-alvo

As bactérias Gram-negativas são naturalmente mais resistentes do que as Gram-positivas devido a presença das porinas, proteínas que compõem sua membrana externa e formam canais, regulando a entrada de substâncias. Dessa forma a resistência é estabelecida pela célula bacteriana devido a redução da abertura das porinas, onde o antibiótico se torna incapaz de entrar no espaço periplasmático e agir (TORTORA et al., 2012). Esse mecanismo, conhecido em resistência a tetraciclina e penicilina é resultado de mutações em genes cromossômicos (BAUMAN, 2009).

Alteração no sítio-alvo

Por meio desse mecanismo as bactérias podem adquirir um gene que codifica uma nova molécula resistente ao antibiótico, substituindo o alvo original. Além disso também pode ocorrer a alteração no próprio alvo do antibiótico porém conferindo características que o deixem menos suscetível. A ação da eritromicina e clindamicina é afetada por esse mecanismo (BRASIL, 2007).

Efluxo e ejeção do antibiótico

O bombeamento ativo de antibiótico do meio intracelular para o extracelular confere resistência a algumas drogas como tetraciclina (BRASIL, 2007). Algumas proteínas presentes na membrana plasmática das bactérias Gram-negativas agem como bombas que evitam o acúmulo das drogas antimicrobianas no interior da célula, expelindo os antibióticos antes que atinjam a concentração necessária para matar a bactéria (TENOVER, 2006).

Existem pelo menos nove genes codificadores de proteínas que promovem efluxo de antibióticos no gênero *Salmonella* sendo que oito deles também estão presentes em *Escherichia coli*: *AcrAB*, *AcrD*, *AcrEF*, *MdtABC*, *EmrAB*, *MdfA*, *MdtK* e *MacAB*. O gene *MdsABC* é exclusivo ao gênero *Salmonella* (NISHINO et al., 2009).

Impacto da resistência a antibióticos em saúde pública

Acredita-se que a utilização indiscriminada de drogas antimicrobianas não somente para tratamento de doenças na medicina humana e veterinária mas também para melhorar os índices zootécnicos dos animais de produção têm contribuído para o surgimento de bactérias multirresistentes (HUR et al., 2012). Existem indícios de que essa utilização indevida nos animais de produção podem transmitir resistência a antibióticos aos seres humanos por meio de seus produtos e derivados (MOTA et al., 2005). No entanto, há que considerar que os tratamentos inadequados prescritos para humanos e a automedicação são fatores de grande expressividade para a resistência.

Segundo a *Food and Drug Administration* (FDA), a emergência de bactérias resistentes é um ponto bastante controverso e que causa discussão. De acordo com a agência, existe um grupo de cientistas e técnicos que defende a teoria de que a utilização intensa de antimicrobianos na agropecuária promove o surgimento de

reservatórios de cepas resistentes que podem ser transmitidas aos seres humanos por meio do consumo dos alimentos. Outra vertente aponta para o abuso de antibióticos na medicina humana como o responsável pelo aumento da resistência e consequentemente falhas no tratamento de infecções humanas (NAWAZ et al., 2001).

Nesse sentido, para que o problema seja controlado devem ser elaboradas estratégias de gestão de risco para a utilização comedida de antibióticos em ambas populações (COLLIGNON et al., 2009).

Particularmente em relação ao gênero *Salmonella* existe grande preocupação em todo o mundo devido a emergência cada vez mais frequente de cepas multirresistentes. Por isso, programas nacionais e internacionais de vigilância epidemiológica foram criados no intuito de estudar a epidemiologia de *Salmonella* sp. e identificar padrões de resistência a antimicrobianos das cepas ao longo do tempo, contribuindo assim para a identificação de fatores de risco e suas implicações em saúde pública (YAN et al., 2003).

No Brasil, no ano de 2004 a ANVISA implantou o Programa Nacional de Monitoramento da Prevalência e da Resistência Bacteriana em Frango (PREBAF), cuja abordagem envolve diversos aspectos na análise de risco da disseminação de resistência microbiana em *Salmonella* sp. e *Enterococcus* sp. Com os resultados obtidos em 2008, a ANVISA visa estender o programa de forma a caracterizar as cepas resistentes e multirresistentes quanto a capacidade de transportar e transferir genes de resistência, além de incluir outros dois patógenos zoonóticos importantes, *Listeria* sp. e *Campylobacter* spp. (BRASIL, 2008).

Outro exemplo de programa de vigilância epidemiológica focado em patógenos de grande repercussão em saúde pública é o Sistema Nacional de Monitoramento de Resistência Antimicrobiana (NARMS) sediado nos Estados Unidos, cujo objetivo principal é monitorar a resistência a antibióticos das bactérias entéricas isoladas de humanos, animais e alimentos. O programa é uma parceria entre *Food and Drug Administration* (FDA), *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) e *U.S. Department of Agriculture* (USDA), onde anualmente são elaborados relatórios com dados sobre o rastreamento e caracterização dos principais patógenos entéricos: *Salmonella*, *Campylobacter*, *Escherichia coli* e *Enterococcus*.

Além da ocorrência de cepas resistentes, outro ponto importante que permeia os mecanismos de transferência gênica horizontal é a transmissão de genes de virulência também presentes em bactérias com fenótipos resistentes, entre membros de bactérias entéricas patogênicas (*Salmonella*, *Campylobacter*, *Shigella*, *Helicobacter*, *Vibrio*, *Yersinia*, *Clostridium* e *Listeria*) e as bactérias probióticas no intestino dos seres humanos. Dessa forma existem duas consequências graves: aumento da colonização desses agentes patogênicos resistentes provocando infecções mais fortes no trato gastro-intestinal; e um desequilíbrio na microbiota residente podendo aumentar os riscos de infecções extra-intestinais (bacteremia) e potencializar outras doenças (CAPOZZI & SPANO, 2009).

Por todas as considerações acerca dos mecanismos de transferência gênica entre bactérias pertencentes ao gênero *Salmonella*, é de extrema importância que seja acompanhado a dinamicidade das cepas ao longo do tempo de forma a rastrear a resistência a antibióticos compreendendo os riscos aos quais os seres humanos estão submetidos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As bactérias têm acesso a uma variedade de elementos genéticos móveis e mecanismos de recombinação que conferem diversas propriedades fundamentais para sua sobrevivência no ambiente em que se encontram.

É extremamente importante compreender e acompanhar os mecanismos de adaptação de determinada população bacteriana frente à introdução de novas drogas antimicrobianas de modo a evitar falhas no tratamento de doenças e consequentemente infecções persistentes tanto em seres humanos quanto em animais.

Dentre os elementos gênicos móveis existentes, as bactérias do gênero *Salmonella* fazem uso principalmente de integrons, particularmente os de classe 1, onde estudos focados em caracterização de cepas multirresistentes frequentemente encontram a presença desse componente, associados ao cromossomo ou plasmídeos conjugativos.

Os fatores predisponentes para a emergência de patógenos resistentes ainda é um ponto discutível na comunidade científica, porém independente de quem tenha maior ou menor responsabilidade nessa questão é fato de que o abuso da utilização de drogas tanto na medicina humana quanto na veterinária contribuem para a seleção de micro-organismos resistentes e consequentemente dispersão dessa característica de forma vertical ou horizontal entre as populações.

Portanto compete aos profissionais de saúde bem como as autoridades sanitárias a orientação e fiscalização do uso comedido de antibióticos pois a velocidade com que as bactérias conseguem encontrar um meio de sobrevivência e perpetuação da espécie é superior a capacidade de desenvolvimento de novos fármacos. Além disso, as ações implementadas pela vigilância epidemiológica são imprescindíveis ao monitoramento não somente de cepas com fenótipos resistentes mas também aos mecanismos gênicos responsáveis pela codificação dessa propriedade. Particularmente, ressalta-se o papel do médico veterinário e sua responsabilidade em toda a cadeia de produção de alimentos de origem animal, de forma a oferecer um produto final com qualidade microbiológica dentro dos padrões exigidos, resguardando a saúde do consumidor.

REFERÊNCIAS

AJIBOYE, R. M. O. D.; SOLBERG, B. M.; LEE, E.; RAPHAEL, C.; DEBROY, L. W.; RILEY, L. W. Global spread of mobile antimicrobial drug resistance determinants in human and animal *Escherichia coli* and *Salmonella* strains causing community-acquired infections. **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, v. 49, p. 365-371, 2009.

ANTUNES, P.; MACHADO, J.; SOUSA, J. C.; PEIXE, L. Dissemination of sulfonamide resistance genes (*sul1*, *sul2*, and *sul3*) in Portuguese *Salmonella enterica* strains and relation with integrons. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Bethesda, v. 49, n. 2, p. 836-839, 2005.

BAUMAN, R. W. Microbial Genetics. In: **Microbiology**. 2.ed. San Francisco: Pearson, 2009. cap. 7, p. 197-328.

BENNETT, P. M. Integrons and gene cassettes: a genetic construction kit for bactéria. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, Londres, v. 43, p. 1-4, 1999.

BOXSTAEL, S. V.; DIERICK, K.; VAN HUFFEL, X.; UYTENDAELE, M.; BERKVEN, D.; HERMAN, L.; BERTRAND, S.; WILDEMAUWE, C.; CATRY, B.; BUTAYE, P.; IMBERECHTS, H. Comparison of antimicrobial resistance patterns and phage types of *Salmonella* Typhimurium isolated from pigs, pork in Belgium between 2001 and 2006. **Food Research International**, Barking, v. 45, p. 913-918, 2012.

BRASIL, ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Programa Nacional de Monitoramento da Prevalência e da Resistência Bacteriana em Frango – PREBAF. Janeiro, 2008.

BRIGULLA, M.; WACKERNAGEL, W. Molecular aspects of gene transfer and foreign DNA acquisition in prokaryotes with regard to safety issues. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 86, p. 1027-1041, 2010.

CALVO, J.; MARTÍNEZ, L. Mecanismos de acción de los antimicrobianos. **Enfermedades infecciosas y microbiología clínica**, Espanha, v. 27, n. 1, p. 44-52, 2009.

CAMBRAY G.; GUEROUT, A. M.; MAZEL, D. Integrons. **Annual Review of Genetics**, Palo Alto. v. 44, p. 141–166, 2010.

CAPOZZI, V.; SPANO, G. Horizontal gene transfer in the gut: Is it a risk? **Food Research International**, Barking, v. 42, p. 1501–1502, 2009.

CARATTOLI, A. Plasmid-Mediated Antimicrobial Resistance in *Salmonella enterica*. **Current Issues in Molecular Biology**, Norwich, v. 5, p. 113-122, 2003.

CARATTOLI, A. Plasmids in Gram negatives: Molecular typing of resistance plasmids. **International Journal of Medical Microbiology**, Jena, v. 301, p. 654–658, 2011.

CDC. **National Salmonella Surveillance Overview**. Atlanta, Georgia: US Department of Health and Human Services, CDC, [online], 2011. Disponível em: http://www.cdc.gov/nationalsurveillance/PDFs/NationalSalmSurveilOverview_508.pdf . Acesso em 30 de novembro de 2012.

CLOECKAERT, A.; SCHWARZ, S. Molecular characterization, spread and evolution of multidrug resistance in *Salmonella enterica* Typhimurium DT104. **Veterinary Research**, Les Ulis, v. 32, p. 301-310, 2001.

COLLIGNON, P.; POWERS, J. H.; CHILLER, T. M.; AIDARA-KANE, A.; AARESTRUP, F. M. World Health Organization ranking of antimicrobials according to their importance in human medicine: a critical step for developing risk management strategies for the use of antimicrobials in food production animals. **Clinical Infectious Disease**, Chicago, v. 49, p. 132–141, 2009.

CONLEY, E. C. Mechanism and genetic control of recombination in bacteria. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 284, p. 75-96, 1992.

DAHSHAN, H.; SHAHADA, F.; CHUMA, T.; MORIKI, H.; OKAMOTO, K. Genetic analysis of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovars Stanley and Typhimurium from cattle. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 145, p. 76–83, 2010.

D'AOUST, J. Y.; MAURER, J. *Salmonella* species. In: DOYLE, M. P.; BEUCHAT, L. R. **Food Microbiology**. 3.ed. Washington:ASM Press, 2007. cap. 10, p. 187-219.

DE LA CRUZ, F.; DAVIES, J. Horizontal gene transfer and the origin of species: lessons from bacteria. **Trends in microbiology**, Cambridge, v. 8, n. 3, p. 128–133, 2000.

DE SOUZA, R. B.; MAGNANI, M.; OLIVEIRA, T. C. R. M. Mechanisms of quinolone resistance in *Salmonella* spp. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 413-428, 2010.

DIDELOT, X.; MAIDEN, M. C. Impact of recombination on bacterial evolution. **Trends in Microbiology**, Cambridge, v. 18, n. 7, p. 315–322, 2010.

DOUBLET, B.; BOYD, D.; MULVEY, M. R., CLOECKAERT, A. The *Salmonella* genomic island 1 is an integrative mobilizable element. **Molecular Microbiology**, Salem, v. 55, n. 6, p.1911–1924, 2005.

DOUBLET, B.; PRAUD, K.; BERTRAND, S.; COLLARD, J. M.; WEILL, F. X.; CLOECKAERT, A. Novel insertion sequence- and transposon-mediated genetic rearrangements in genomic island SG11 of *Salmonella enterica* serovar Kentucky. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Bethesda, v. 52, n. 10, p. 3745-3754, 2008.

FERREIRA, E. O, CAMPOS, L.C. *Salmonella*. In: TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 5.ed. São Paulo:Ed.Atheneu, 2008. cap. 43, p. 329-338.

FIERER, J., GUINEY, D. G. Diverse virulence traits underlying different clinical outcomes of *Salmonella* infection. **Journal of Clinical Investigation**, Nova Iorque, v. 107, p. 775–780, 2001.

FLUIT, A. C.; SCHMITZ, F. J. Resistance integrons and super-integrons. **Clinical Microbiology and Infection**, Paris, v. 10, p. 272–288, 2004.

FOLEY, S. L.; LYNNE, A. M. Food animal-associated *Salmonella* challenges, pathogenicity and antimicrobial resistance. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 86, p. 173–187, 2008.

GARCIA-RUSSELL, N.; ELROD, B.; DOMINGUEZ, K. Stress-induced prophage DNA replication in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. **Infection, Genetics and Evolution**, Amsterdam, v. 9, p. 889-895, 2009.

GEBREYES, W. A.; ALTIER, C. Molecular Characterization of Multidrug-Resistant *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Serovar Typhimurium Isolates from Swine. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 40, n. 8, p. 2813–2822, 2002.

HANAGE, W. P.; FRASER, C.; SPRATT, B. G. The impact of homologous recombination on the generation of diversity in bacteria. **Journal of Theoretical Biology**, Londres, v. 239, p. 210–219, 2006.

HUR, J.; JAWALE, C.; LEE, J. H. Antimicrobial resistance of Salmonella isolated from food animals: A review. **Food Research International**, Barking, v. 45, p. 819–830, 2012.

JUNIOR, M. A. S.; FERREIRA, E. S.; CONCEIÇÃO, G. C. Beta-lactamases de Espectro Ampliado (ESBL): um Importante Mecanismo de Resistência Bacteriana e sua Detecção no Laboratório Clínico. **NewsLab**, São Paulo, v. 63, p. 152-174, 2004.

KELLY, B. G.; VESPERMANN, A.; BOLTON, D. J. Gene transfer events and their occurrence in selected environments. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 47, p. 978–983, 2009a.

KELLY, B. G.; VESPERMANN, A.; BOLTON, D. J. The role of horizontal gene transfer in the evolution of selected foodborne bacterial pathogens. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 47, p. 951-968, 2009b.

LÁZARO, N. S.; TIBANA, A.; RODRIGUES, D. P.; REIS, E. M. F.; QUINTAES, B. R.; HOFER, E. Antimicrobial resistance and R-plasmid in *Salmonella* spp. from swine and abattoir environments. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 2, p. 57-60, abr./jun. 2004.

LEE, M. F.; CHEN, Y. H.; PENG, C. F. Molecular characterisation of class 1 integrons in *Salmonella enterica* serovar Choleraesuis isolates from southern Taiwan. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 33, p. 216–222, 2009.

LI, J.; NELSON, K.; MCWHORTER, A. C.; WHITTAM, T. S.; SELANDER, R. K. Recombinational basis of serovar diversity in *Salmonella enterica*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 91, p. 2552–2556, 1994.

LIU, W.; ZHU, X. N.; YU, S.; SHI, X. M. Diversity of Salmonella isolates using serotyping and multilocus sequence typing. **Food Microbiology**, Londres, v. 28, n. 6, p. 1182-1189, 2011.

MAJTÁNOVÁ, L.; MAJTÁN, V. Molecular characterization of the multidrug- resistant phage types Salmonella enterica serovar Typhimurium DT104, DT20A and DT120 strains in the Slovakia. **Microbiological Research**, Jena, v. 164, p. 157—162, 2009.

MAZEL, D. Integrons: agents of bacterial evolution. **Nature Reviews Microbiology**, Londres, v. 4, p. 608–620, 2006.

McCUDDIN, Z.; CARLSON, S. A.; RASMUSSEN, M. A.; FRANKLIN, S. K. *Klebsiella* to *Salmonella* gene transfer within rumen protozoa: Implications for antibiotic resistance and rumen defaunation. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 114, p. 275–284, 2006.

McENTIRE, J. C.; MONTVILLE, T. J. Antimicrobial Resistance. In: DOYLE, M. P.; BEUCHAT, L. R. **Food Microbiology**. 3 ed. Washington:ASM Press:, 2007. cap. 2, p. 23-34.

McMANUS, M. C. Mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. **American Journal of Health System Pharmacy**, Bethesda, v. 54, p. 1420–1433, 1997.

MENG, H.; ZHANG, Z.; CHEN, M.; SU, Y.; LI, L.; MIYOSHI, S.I.; YAN, H.; SHI, L. Characterization and horizontal transfer of class 1 integrons in *Salmonella* strains isolated from food products of animal origin. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam , v. 149, p. 274-277, 2011.

MICHAEL, G. B.; CARDOSO, M.; SCHWARZ, S. Molecular analysis of multiresistant porcine *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Bredeney isolates from Southern Brazil: identification of resistance genes, integrons and a group II intron. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 32, p. 120-129, 2008.

MIRIAGOU, V.; CARATTOLI, A.; FANNING, S. Antimicrobial resistance islands: resistance gene clusters in *Salmonella* chromosome and plasmids. **Microbes and Infection**, Paris, v. 8, p. 923-1930, 2006.

MMOLAWA, P. T.; WILLMORE, R.; THOMAS, C. J.; HEUZENROEDER, M. W. Temperate phages in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium: implications for epidemiology. **International Journal of Medical Microbiology**, Jena, v. 291, p.633-644, 2002.

MOTA, R. A.; SILVA, K. P. C.; FREITAS, M. F. L.; PORTO, W. J. N.; SILVA, L. B. G. Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição a multirresistência bacteriana. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 42, n. 6, p. 465-470, 2005.

NAWAZ, M. S.; ERICKSON, B. D.; KHAN, A. A.; KHAN, S. A.; POTHULURI, J. V.; RAFII, F.; SUTHERLAND, J. B.; WAGNER, R. D.; CERNIGLIA, C. E. Human Health Impact and Regulatory Issues Involving Antimicrobial Resistance in the Food Animal Production Environment. **Regulatory Research Perspectives**, v.1, p.1-10, 2001.

NISHINO, K.; NIKAIDO, E.; YAMAGUCHI, A. Regulation and physiological function of multidrug efflux pumps in *Escherichia coli* and *Salmonella*. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1794, 834–843, 2009.

O'CALLAGHAN, D., CHARBIT, A. High efficiency transformation of *Salmonella Typhimurium* and *Salmonella Typhi* by electroporation. **Molecular and General Genetics**, Nova Iorque, v. 223, p. 156–158, 1990.

PADILLA, G.; DA COSTA, S. O. P. Genética bacteriana. In: TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F.; GOMBERTZ, O. F.; CANDEIAS, J. A. N. **Microbiologia**. 3.ed. São Paulo:Ed.Atheneu, 2000. cap. 5, p. 55-67.

PARTRIDGE, S. R.; TSAFNAT, G.; COIERA E.; IREDELL, J. Gene cassettes and cassette arrays in mobile resistance integrons. **FEMS Microbiology Review**, Amsterdam, v. 33, p. 757–784, 2009.

PEZZELLA, C.; RICCI, A.; DIGIANNATALE, E.; LUZZI, I.; CARATTOLI, A. Tetracycline and streptomycin resistance genes, transposons, and plasmids in *Salmonella enterica* isolates from animals in Italy. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Bethesda, v. 48, n. 3, p. 903-908, 2004.

POPPE, C.; MARTIN, L. C.; REID-SMITH, R.; BOERLIN, P.; MCEWEN, S. A.; PRESCOTT, J. F.; FORWARD, K. R. Acquisition of resistance to extended-spectrum cephalosporins by *Salmonella enterica* serovar Newport and *Escherichia coli* in the turkey poult intestinal tract. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 71, p. 1184–1192, 2005.

PORWOLLIK, S.; McCLELLAND, M. Lateral gene transfer in *Salmonella*. **Microbes and Infection**, Paris, v. 5, p. 977-989, 2003.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; LEONARD, F. C. FITZPATRICK, E. S.; FANNING, S.; HARTIGAN, P. J. Bacterial genetics and mechanisms of genetic variation and gene database. In: **Veterinary microbiology and microbial disease**. 2.ed. Wiley-Blackwell, 2011. cap. 9, p. 129-142.

RIDLEY, A.; THRELFALL, E. J. Molecular epidemiology of antibiotic resistance genes in multiresistant epidemic *Salmonella typhimurium* DT 104. **Microbial Drug Resistance**, Larchmont, v.4, n. 2, p. 113–118, 1998.

ROWE-MAGNUS, D. A.; MAZEL, D. Resistance gene capture. **Current Opinion in Microbiology**, Oxford, v. 2, p. 483-488, 1999.

SÁNCHEZ-VARGAS, F. M.; ABU-EL-HAIJA, M. A.; GOMEZ-DUARTE, O. G. *Salmonella* infections: an update on epidemiology, management, and prevention. **Travel Medicine and Infectious Disease**, v. 9, p. 263-277, 2011.

SCHICKLMAIER, P.; MOSER, E.; WIELAND, Z.; RABSCH, W.; SCHMIEGER, H. A comparative study of the frequency of prophages among natural isolates of *Salmonella* and *Escherichia coli* with emphasis on generalized transducers. **Antonie Van Leeuwenhoek**, Amsterdam, v. 73, p. 49-54, 1998.

SCHMIEGER, H.; SCHICKLMAIER, P. Transduction of multiple drug resistance of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT104. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam; v. 170, p. 251–256, 1999.

SHAHADA, F.; SUGIYAMA, H.; CHUMA, T.; SUEYOSHI, M.; OKAMOTO, K. Genetic analysis of multi-drug resistance and the clonal dissemination of beta-lactam resistance in *Salmonella* *Infantis* isolated from broilers. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 140, p. 136-144, 2010.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; SANTOS, R.F.S.; GOMES, R.A.R. *Salmonella*. In: **Manual de métodos de análise ENCICLOPÉDIA BIOSFERA**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.9, N.16; p.¹¹⁵¹ 2013

microbiológica de alimentos. 3. ed. São Paulo: Varela, 2007. cap. 19, p. 253-285.

TENOVER, F.C. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. **The American Journal of Medicine**, Nova Iorque, v. 119, p. 3-10, 2006.

THOMAS, C. M.; NIELSEN, K. M. Mechanisms of, and barriers to, horizontal gene transfer between bacteria. **Nature Reviews Microbiology**, Londres, v. 3, p. 711–721, 2005.

THONG, K.L.; MODARRESSI, S. Antimicrobial resistant genes associated with *Salmonella* from retail meats and street foods. **Food Research International**, Barking, v. 44, p. 2641–2646, 2011.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. In: **Microbiologia**. 10.ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.

TRABULSI, L. R. Mecanismo de ação dos antibacterianos. In: TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F.; GOMBERTZ, O. F.; CANDEIAS, J. A. N. **Microbiologia**. 3.ed. São Paulo: Ed. Atheneu, 2000. cap. 9, p. 93-98.

TRABULSI, L. R.; TOLEDO, M. R. F. Resistência bacteriana a drogas. In: TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F.; GOMBERTZ, O. F.; CANDEIAS, J. A. N. **Microbiologia**. 3.ed. São Paulo: Ed. Atheneu, 2000. cap. 11, p. 105-109.

TUCKER, C. P.; HEUZENROEDER, M. W. ST64B is a defective bacteriophage in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT64 that encodes a functional immunity region capable of mediating phage-type conversion. **International Journal of Medical Microbiology**, Jena, v. 294, p. 59-63, 2004.

VAN ELSAS, J. D.; BAILEY, M. J. The ecology of transfer of mobile genetic elements. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 42, p. 187–197, 2002.

VAN, T. T. H.; NGUYEN, H. N. K.; SMOOKER, P. M.; COLOE, P. J. The antibiotic resistance characteristics of non-typhoidal *Salmonella enterica* isolated from food-producing animals, retail meat and humans in South East Asia. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 154, p. 98-106, 2012.

WANG, Y. C.; CHANG, Y. C.; CHUANG, H. L.; CHIU, C. C.; YEH, K. S.; CHANG, C. C.; HSUAN, S. L.; CHEN, T. H. Antibiotic resistance, integrons and *Salmonella* genomic island 1 among *Salmonella* Schwarzengrund in broiler chicken and pig. **African Journal of Microbiology Research**, v. 4, n. 9, p. 677-681, 2010.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. Drug-resistance *Salmonella* [online], 2005. Disponível em <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/en/>. Acesso em: 11 de novembro de 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). 10 Facts on Antimicrobial resistance. Disponível em: http://www.who.int/features/factfiles/antimicrobial_resistance/facts/en/index.html. Acesso em: 05 de novembro de 2012.

YAN, S. S.; PENDRAK, M. L.; ABELA-RIDDER, B.; PUNDERSON, J. W.; FEDORKO, D. P.; FOLEY, S. L. An overview of Salmonella typing: Public health perspectives. **Clinical and Applied Immunology Reviews**, v. 4, p. 189-204, 2003

YANG, B.; ZHENG, J.; BROWN, E.W.; ZHAO, S.; MENG, J. Characterisation of antimicrobial resistance-associated integrons and mismatch repair gene mutations in Salmonella serotypes, **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 33, p. 120-124, 2009.

YANG, B.; XI, M.; CUI, S.; ZHANG, X.; SHEN, J.; SHENG, M.; QU, D.; WANG, X.; MENG, J. Mutations in gyrase and topoisomerase genes associated with fluoroquinolone resistance in *Salmonella* serovars from retail meats. **Food Research International**, Barking, v. 45, p. 935–939, 2012.

YE, J.; LIN-HUI, S.; CHYI-LIANG C.; HU, S.; WANG, J.; YU, J.; CHENG-HSUN, C. Analysis of pSC138, the multidrug resistance plasmid of Salmonella enterica serotype Choleraesuis SC-B67. **Plasmid**, Nova Iorque, p. 132–140, 2011.

ZHANG, Y.; LeJEUNE, J.T. Transduction of bla(CMY-2), tet(A), and tet(B) from Salmonella enterica subspecies enterica serovar Heidelberg to S. Typhimurium. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 129, p. 418-425, 2008.

ZIOGA, A.; WHICHARD, J. M.; JOYCE, K. J.; TZELEPI, E.; TZOUVELEKIS, L. S.; MIRIAGOU, V. Evidence for chromosomal and plasmid location of CMY-2 cephalosporinase gene in *Salmonella* serotype Typhimurium. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, Londres, v. 61, p. 1389–1399, 2008.