

## CAPÍTULO 6

# USO DE TÉCNICAS DE BIOLOGIA MOLECULAR NA IDENTIFICAÇÃO DE MARCADORES GENÉTICOS ASSOCIADOS A RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA (RAM) EM PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL

*Data de submissão: 06/10/2023*

*Data de aceite: 01/11/2023*

### **Aline Carvalho Araújo Almeida**

Universidade Estadual do Maranhão -  
UEMA

Programa de Pós-Graduação Profissional  
em Defesa Sanitária Animal - PPGPDSA  
São Luís, Maranhão  
<http://lattes.cnpq.br/2074825535945171>

### **Elizabeth Almeida dos Santos**

Universidade Estadual do Maranhão -  
UEMA

Programa de Pós-Graduação Profissional  
em Defesa Sanitária Animal - PPGPDSA  
São Luís, Maranhão  
<http://lattes.cnpq.br/7029210019896202>

### **Douglainny Barros do Nascimento**

Universidade Estadual do Maranhão -  
UEMA

Programa de Pós-Graduação Profissional  
em Defesa Sanitária Animal - PPGPDSA  
São Luís, Maranhão  
<http://lattes.cnpq.br/7724547154742520>

### **Willy Kelvin dos Anjos Candeira**

Universidade Estadual do Maranhão -  
UEMA

Programa de Pós-Graduação Profissional  
em Defesa Sanitária Animal - PPGPDSA  
São Luís, Maranhão  
<http://lattes.cnpq.br/2912608721418564>

### **Maria do Socorro Costa Oliveira**

Universidade Estadual do Maranhão -  
UEMA

Programa de Pós-Graduação Profissional  
em Defesa Sanitária Animal - PPGPDSA  
São Luís, Maranhão  
<http://lattes.cnpq.br/2002116970487689>

### **Carla Janaina Rebouças Marques do Rosário**

Universidade Estadual do Maranhão -  
UEMA

Programa de Pós-Graduação Profissional  
em Defesa Sanitária Animal - PPGPDSA  
São Luís, Maranhão  
<http://lattes.cnpq.br/8929786232927576>

### **Viviane Correa Silva Coimbra**

Universidade Estadual do Maranhão -  
UEMA

Programa de Pós-Graduação Profissional  
em Defesa Sanitária Animal - PPGPDSA  
São Luís, Maranhão  
<http://lattes.cnpq.br/5735297692590207>

**RESUMO:** Este estudo aborda a crescente e abrangente ameaça da resistência antimicrobiana em produtos de origem animal, destacando a relevância das avançadas técnicas de biologia molecular

na identificação de marcadores genéticos associados a essa resistência. Além disso, enfatiza a necessidade urgente de uma abordagem interdisciplinar, com a estratégia da “Saúde Única”, para enfrentar os desafios. A pesquisa revela que a resistência antimicrobiana não apenas impacta a saúde única e a segurança alimentar, mas também tem implicações significativas para a sustentabilidade ambiental, pois os microrganismos resistentes podem se disseminar em diferentes ecossistemas, incluindo produtos de origem animal destinados ao consumo humano. Portanto, é urgente a adoção de medidas apropriadas em todas as etapas da produção, processamento e consumo de alimentos, bem como em ambientes hospitalares, para conter a disseminação desse problema que ameaça a eficácia dos antimicrobianos e, conseqüentemente, a saúde humana e animal em escala global.

**PALAVRAS-CHAVE:** Resistência antimicrobiana (RAM), saúde única, biologia molecular.

## USE OF MOLECULAR BIOLOGY TECHNIQUES TO IDENTIFY GENETIC MARKERS ASSOCIATED WITH ANTIMICROBIAL RESISTANCE (AMR) IN ANIMAL PRODUCTS

**ABSTRACT:** This study addresses the growing and far-reaching threat of antimicrobial resistance in animal products, highlighting the relevance of advanced molecular biology techniques in identifying genetic markers associated with this resistance. In addition, it emphasizes the urgent need for an interdisciplinary approach, with the “One Health” strategy, to tackle the challenges. The research reveals that antimicrobial resistance not only impacts single health and food safety, but also has significant implications for environmental sustainability, as resistant microorganisms can spread in different ecosystems, including animal products intended for human consumption. It is therefore urgent to adopt appropriate measures at all stages of food production, processing and consumption, as well as in hospital environments, to contain the spread of this problem which threatens the efficacy of antimicrobials and, consequently, human and animal health on a global scale.

**KEYWORDS:** Antimicrobial resistance (AMR), one health, molecular biology.

## 1 | INTRODUÇÃO

A crescente ameaça da resistência antimicrobiana (RAM) é um desafio global que transcende fronteiras, impactando a saúde humana, a segurança alimentar e a sustentabilidade ambiental. A contribuição significativa dos produtos de origem animal para a disseminação de microrganismos resistentes a antimicrobianos tem gerado preocupações substanciais em relação à saúde pública e indústria alimentícia (WHO, 2019).

As pesquisas têm se voltado para o uso de técnicas avançadas de biologia molecular para identificar marcadores genéticos ligados à resistência antimicrobiana em microrganismos presentes em produtos de origem animal. Nas últimas décadas, os avanços em biologia molecular forneceu ferramentas para a compreensão dos mecanismos implícitos à RAM, orientando estratégias de prevenção e controle (HU *et al.*, 2016).

A RAM é um desafio amplo originado da exposição constante a antimicrobianos na medicina humana, veterinária e na produção de animais para consumo, gerando

microrganismos resistentes capazes de persistir e se disseminar em diversos ambientes, incluindo os produtos de origem animal destinados ao consumo humano. Estudos realizados mostram que a análise genômica desempenha um papel crucial na identificação de marcadores genéticos associados à resistência antimicrobiana, esses achados destacam a necessidade contínua de pesquisa genética para monitorar e compreender a evolução da resistência antimicrobiana a patógenos presentes em produtos de origem animal, fornecendo assim informações valiosas para a formulação de estratégias eficazes de controle e prevenção (SILVA, 2022).

O desenvolvimento de técnicas atuais em biologia molecular, como o sequenciamento de nova geração (NGS), a técnica de PCR em tempo real (qPCR) e a análise de metagenômica, possibilitou uma investigação mais detalhada dos genomas bacterianos e virais encontrados em produtos de origem animal. Essas técnicas fornecem informações valiosas sobre os genes de RAM, sua disseminação e a diversidade genética das populações bacterianas, tornando possível identificar genes específicos, mutações e elementos de transferência genética que desempenham um papel fundamental na resistência antimicrobiana (HU *et al.*, 2016).

Nesse contexto, o presente estudo tem como objetivo revisar e analisar as contribuições mais recentes da biologia molecular na identificação de marcadores genéticos associados à resistência antimicrobiana em produtos de origem animal, discutindo as implicações dessas descobertas para a saúde pública, a segurança alimentar e o manejo sustentável da produção animal.

## 2 | METODOLOGIA

A metodologia utilizada nesta pesquisa corresponde a um estudo descritivo, cuja abordagem é do tipo qualitativa, sendo realizada a partir de pesquisas bibliográficas, portanto, desenvolvida através de artigos científicos, dissertações e teses (GIL, 2008).

Para identificar estudos relevantes, realizou-se buscas em catálogos de pesquisa como Pubmed, SciELO, Web of Science e *Google Scholar*. A pesquisa abrangeu estudos publicados no período de 2018 a 2023.

As análises foram realizadas com base em trabalhos científicos que demonstraram eficácia dos métodos de biologia molecular na identificação de estirpes bacterianas resistentes a antibióticos, isoladas de produtos de origem animal.

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inúmeros estudos relatam o aumento da resistência antimicrobiana (RAM) relacionada ao uso excessivo de antibiótico em diversas fases de criação de animais de produção. A prescrição de antimicrobianos a esses animais é restrita aos médicos veterinários, porém é comum que indivíduos sem a devida qualificação técnica os prescrevam sem uma avaliação

adequada dos animais enfermos. Esse comportamento aumenta o risco de desenvolver esse tipo de resistência (MÚTUA *et al.*, 2020).

Estudos realizados a campo pela Proteção Animal Mundial entre os anos de 2018 e 2022 evidenciam que fazendas industriais de criação intensiva liberam no ambiente e na água genes resistentes a antimicrobianos, além de bactérias altamente resistentes. A análise de produtos cárneos revelou a presença de microrganismos resistentes a múltiplos antibióticos, sugerindo a transmissão desses microrganismos ao longo da cadeia alimentar, com implicações para os consumidores (WAP, 2022).

De acordo com Furlan *et al.* (2020) existe uma provável correlação entre o tipo de produção animal e o desenvolvimento de genes de resistência aos antimicrobianos. Já que se observou em amostras de leite de vaca uma maior diversidade de genes de resistência à antibióticos, especialmente das classes dos macrolídeos, tetraciclina, estreptograminas e lincosaminas.

Os Genes de Resistência Antimicrobiana (ARGs) desempenham um papel central na resistência aos antimicrobianos e têm contribuído para tornar alguns antibióticos ineficazes em várias regiões do mundo. Futuramente, procedimentos cirúrgicos comuns, como o tratamento de câncer e cesarianas, podem se tornar de alto risco em todo o mundo (WAP, 2022).

Um estudo realizado por Ramos (2022) identificou genes de resistência blaTEM e ermB em criações de bovinos de corte e confinamento, com diferenças na suscetibilidade a antimicrobianos entre isolados bacterianos das amostras expostas ao desafio pela PCR. *Klebsiella spp.* e *Enterobacter spp.* demonstraram maior resistência aos antimicrobianos em amostras de fezes e solo.

A idade dos animais também está relacionada à resistência bacteriana aos antibióticos. De acordo com Salaheen *et al.* (2019), bovinos mais velhos tendem a apresentar uma maior prevalência de *Escherichia coli* multirresistente e genes BlaCTX M devido à frequência de uso de antimicrobianos, favorecendo a seleção de bactérias resistentes.

Além disso, o histórico de tratamento de animais jovens com antibióticos pode ter promovido pressão seletiva e a troca de genes entre microrganismos da família Enterobacteriaceae (SHAW *et al.*, 2021).

Ramos (2022) conclui seu estudo sugerindo que animais e seus ambientes podem servir como reservatórios de bactérias resistentes a antimicrobianos, especialmente a classe dos beta-lactâmicos e macrolídeos. A WHO (2019) enfatiza que a família Enterobacteriaceae representa um grande risco para a saúde pública.

Com o avanço da biologia molecular e o aprimoramento das técnicas de PCR, a caracterização genotípica de bactérias resistentes a antimicrobianos e a identificação de marcadores genéticos se tornaram mais ágeis. Morot-Bizot *et al.* (2004) desenvolveram uma técnica de PCR multiplex que identificou especificamente bactérias do gênero

*Staphylococcus*, incluindo *S. aureus*, *S. saprophyticus*, *S. epidermidis* e *S. xylosus*, em amostras de alimentos e locais de manipulação de alimentos, demonstrando sua utilidade na investigação e monitoramento de cepas isoladas.

Vieira (2023) realizou testes de resistência à antibióticos contra a *Staphylococcus* coagulase-negativo (SCN) isolados de carne suína e das mãos de operadores de frigorífico de abate de suínos. A conclusão foi que muitas estirpes eram multirresistentes, representando um risco na produção da carne suína. A reação de PCR multiplex para detecção de genes de resistência à antimicrobianos, relacionados a patógenos mastíticos, como *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*, possibilitam uma melhor compreensão dos mecanismos de transmissão de resistência (ALMEIDA, 2018).

*Escherichia coli* resistente a antibiótico encontradas em produtos de origem animal foram caracterizadas usando a PCR multiplex na detecção de genes de resistência  $\beta$ -lactamases, carbapenemases, resistência a quinolonas e elementos genéticos móveis. Foi observada diferença significativa nas Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM) dos antibióticos em diferentes espécies de animais, identificando um padrão de multirresistência a pelo menos três classes de antibióticos não relacionadas em diferentes espécies (MOURA, 2019). A proximidade entre seres humanos, animais e o ambiente tem contribuído para a transferência de genes resistentes entre as bactérias nesses ecossistemas (ALMEIDA, 2018).

Considerando os riscos de infecção alimentar causada por bactérias multirresistentes, é de extrema importância adotar práticas adequadas de manuseio e higiene em todas as etapas da produção, processamento e consumo de alimentos, a fim de evitar mortes por sepsis. A abordagem multidisciplinar conhecida como “Saúde Única” (One Health) desempenha um papel fundamental na integração da saúde pública, saúde animal e preservação do meio ambiente, reduzindo os riscos associados à disseminação da resistência antimicrobiana.

## 4 | CONCLUSÃO

Este estudo destaca a importância da resistência antimicrobiana, como um desafio significativo para a saúde pública, segurança alimentar e o ambiente. Utilizando técnicas avançadas de biologia molecular na identificação de marcadores genéticos relacionados à resistência antimicrobiana em produtos de origem animal, enfatizando a necessidade de abordagens interdisciplinares, como a estratégia “Saúde Única”, para mitigar a crescente disseminação desse problema.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, P.A.A. **Desenvolvimento e avaliação de método molecular baseado em PCR multiplex para detecção de genes de resistência a antimicrobianos relevantes para o controle da mastite bovina**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados). Universidade de Juiz de Fora, Minas Gerais, 2018.

FURLAN, J.P.R. et al. Fecal cultivable aerobic microbiota of dairy cows and calves acting as reservoir of clinically relevant antimicrobial resistance genes. **Braz. J. microbiol.**, v. 51, p.1377- 1382, 2020. Disponível em: <[https://www.researchgate.net/publication/338403815\\_Fecal\\_cultivable\\_aerobic\\_microbiota\\_of\\_dairy\\_cows\\_and\\_calves\\_acting\\_as\\_reservoir\\_of\\_clinically\\_relevant\\_antimicrobial\\_resistance\\_genes](https://www.researchgate.net/publication/338403815_Fecal_cultivable_aerobic_microbiota_of_dairy_cows_and_calves_acting_as_reservoir_of_clinically_relevant_antimicrobial_resistance_genes)>. Acesso em: 15 set. 2023.

GIL, A.C. **Métodos e técnicas de pesquisa social**. 6 ed. São Paulo: Atlas S.A, 2008. 220p.

HU, Y. The bacterial mobile resistome transfer network connecting the animal and human microbiomes. **Applied and Environmental Microbiology**, v.82, n.22, 2016. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/aem.01802-16#>. Acesso em: 13 set. 2023.

MOROT-BIZOT, S.C; TALON, R.; LEROY, S. Multiplex PCR for detection of the genus *Staphylococcus* and four species *Staphylococcal* isolated from food. **Journal of Applied Microbiology**, v.97, n.5, p.1087-1094, nov. 2004. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15479426>>. Acesso em: 11 set. 2023.

MOURA, L. F. C. **Caracterização dos mecanismos de resistência aos antibióticos em estirpes de *Escherichia coli* isoladas de produtos de origem animal**. Dissertação (Mestrado em Qualidade Alimentar e Saúde). Universidade de Lisboa, Lisboa, 2019.

MÚTUA, F. et al. A review of animal health and drug use practices in India, and their possibility link to antimicrobial resistance. **Antimicrob. Resist. Infect. Control**, Nairobi, 9:103, 2020. Disponível em: <<https://aricjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13756-020-00760-3#citeas>>. Acesso em: 14 set.2023.

RAMOS, T. N. M. **Marcadores de resistência a antimicrobianos em sistemas produtivos de bovinos**. 2022. 91 p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária Preventiva). Universidade Estadual paulista, São Paulo, 2022.

SALAHEEN, S. et al. Antimicrobial Resistance among *Escherichia coli* isolated from veal calf operations in Pennsylvania. **Foodborne Pathog. Dis.** v.16, n.1, p.74-80, jan.2019. Disponível em: <<https://www.liebertpub.com/doi/pdf/10.1089/fpd.2018.2530?download=true>>. Acesso em: 14 set. 2023.

SILVA, C. R. et al. Genomic analysis of *Escherichia coli* circulating in the Brazilian poultry sector. **Braz J Microbiol**, v.53(4), p.2121–2131, 2022. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9679118>>. Acesso em 19 set.2023.

SHAW, L. et al. Niche and local geography shape the pangenome of water and livestock associated Enterobacteriaceae. **Science Advances**, 15 ed., v.7, 9 abril.2021. Disponível em: < [science.org/doi/10.1126/sciadv.abe3868](https://science.org/doi/10.1126/sciadv.abe3868)>. Acesso: em 13 set.2023.

VIEIRA, A. **Avaliação da resistência a antibióticos de *Staphylococcus coagulase negativos* isolados na cadeia de processamento de carne de suíno**. Dissertação (Mestrado em Segurança Alimentar). Universidade de Lisboa, Lisboa, 2023.

WORLD ANIMAL PROTECTION. **Pecuária industrial intensiva: fábrica de bactérias multirresistentes.** 2022. Disponível em: <<https://www.worldanimalprotection.org.br/sites/default/files/media/Relatorio-Pecuarria-Industrial-Intensiva.pdf>>. Acesso em 12 set. 2023.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global Antimicrobial Resistance Surveillance System (GLASS) early implementation 2016-2017.** 2019. Disponível em: <<https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/259744/9789241513449-eng.pdf?sequence=1>>. Acesso em 13 set. 2023.