



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS EM TECNOLOGIAS EM SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS EM SAÚDE

LETÍCIA FERNANDES SILVA RODRIGUES

**RESISTÊNCIA GENÉTICA DE ISOLADOS DE *Escherichia coli* ISOLADAS DE
QUEIJO TIPO MINAS FRESCAL ARTESANAL DO DISTRITO FEDERAL, BRASIL**

BRASÍLIA, 2025

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

FR696r Fernandes Silva Rodrigues, Letícia
RESISTÊNCIA GENÉTICA DE ISOLADOS DE Escherichia coli
ISOLADAS DE QUEIJO TIPO MINAS FRESCAL ARTESANAL DO DISTRITO
FEDERAL, BRASIL / Letícia Fernandes Silva Rodrigues;
orientador Daniela Castilho Orsi; co-orientador Izabel
Cristina Rodrigues da Silva. Brasília, 2025.
211 p.

Tese(Doutorado em Ciências e Tecnologias em Saúde)
Universidade de Brasília, 2025.

1. Contaminação alimentar. 2. Produtos lácteos. 3.
Resistência a antibióticos. 4. Vigilância em saúde pública.
5. Saúde única. I. Castilho Orsi, Daniela, orient. II.
Cristina Rodrigues da Silva, Izabel, co-orient. III. Título.

LETÍCIA FERNANDES SILVA RODRIGUES

**RESISTÊNCIA GENÉTICA DE ISOLADOS DE *Escherichia coli* ISOLADAS DE
QUEIJO TIPO MINAS FRESCAL ARTESANAL DO DISTRITO FEDERAL, BRASIL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologias em Saúde como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutora em Ciências e Tecnologias em Saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Daniela Castilho Orsi

Coorientadora: Profa. Dra. Izabel Cristina Rodrigues da Silva

BRASÍLIA, 2025

LETÍCIA FERNANDES SILVA RODRIGUES

**RESISTÊNCIA GENÉTICA DE ISOLADOS DE *Escherichia coli* ISOLADAS DE
QUEIJO TIPO MINAS FRESCAL ARTESANAL DO DISTRITO FEDERAL, BRASIL**

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Daniela Castilho Orsi (Presidente)
Universidade de Brasília

Prof. Dra. Vania Silva Carvalho
Instituto Federal Goiano

Prof. Dra. Calliandra Maria de Souza
Universidade de Brasília

Prof. Dra. Eliana Fortes Gris
Universidade de Brasília

BRASÍLIA, 2025

À minha Mamãe Tita, minha base e maior inspiração, que sempre me ensinou a importância do estudo; Ao meu esposo, Aislan Rodrigues, a melhor escolha da minha vida, cujo apoio incondicional aos meus sonhos sustentaram cada etapa desta jornada; À memória do meu pai, João Batista, que já não está entre nós, mas que o amor e proteção sempre senti iluminar meus caminhos.

AGRADECIMENTOS

Escrever os agradecimentos é sempre um momento muito especial, pois é quando finalmente percebemos que algo pelo qual esperamos e nos esforçamos por tanto tempo, está chegando ao fim. É também o momento em que revisitamos toda a trajetória percorrida e reconhecemos, com gratidão, as pessoas que caminharam ao nosso lado.

Primeiramente, dedico este trabalho à minha Mamãe Tita, a melhor mãe que alguém poderia ter. Mamãe Tita, eu te amo profundamente e espero, um dia, ser tudo aquilo que a senhora acredita que eu sou. Obrigada por tudo que sempre fez por mim, pelos sacrifícios silenciosos e por nunca permitir que eu desistisse dos estudos. Desejo um dia ter a mesma força e garra que a senhora carrega. Obrigada por ser meu alicerce desde a ausência do meu pai. Se eu pudesse lhe dar o mundo, eu daria, mas por enquanto, entrego o orgulho de ser mãe de uma Doutora. E eu sei que a senhora já está orgulhosa, então aproveita! Hahahah. Sei que meu Pai Batista, se estivesse aqui, ficaria tão feliz quanto, mas ele está em um lugar melhor e assistirá a tudo lá de cima.

Agradeço ao meu esposo e meu Príncipe por seu o meu melhor amigo e maior apoiador de todos. Você é quem sabe o quanto eu sonhei com esse momento, e apesar de bambear algumas vezes, você esteve ali para me sustentar. E eu sei que morar comigo em outro país por seis meses, mesmo não querendo muito, foi a maior prova de apoio e amor que alguém poderia dar. Vida, você sabe o quanto eu te amo e sou extremamente feliz e realizada ao seu lado. Quem sabe um dia eu paro de inventar moda e você terá paz. Hahahahah Te amo demais, meu Denguinho.

Agradeço à minha mãe Lígia, que sempre me sustentou em suas orações. Mãe, eu te amo. Sinto diariamente o poder das suas preces na minha vida. A senhora conhece bem as minhas inseguranças, mas nunca deixou de me apoiar. E, como sempre, a Sra. estava certa: “Vai dar certo, sim!”. Graças a Deus!

Agradeço ao meu Irmãozinho, Hernane Mota. Irmãozinho, eu te amo tanto que você nem imagina. Seu apoio sempre será um motivo de orgulho para mim. Obrigada por tudo que você fez para me apoiar durante o período do doutorado! Mas obrigada também por me dar o melhor presente que uma irmã pode querer, meu sobrinho Arthur e minha afilhada Cecília. Essas crianças são tudo para mim, e espero um dia poder

ser para elas o apoiador que você é para mim. A minha cunhada Edivanilda também sou grata por todo apoio e confiança. Te amo, Fia. E agradeço também ao meu irmão Renan, que eu amo tanto e que foi peça fundamental na minha jornada, principalmente durante o tempo que ficamos fora.

Agradeço as minhas Tias Lica e Dinha. Eu as amo e sou imensamente grata por todo o apoio. Obrigada por tudo que fazem por mim. Amo vocês imensamente. Agradeço também a toda minha família que sempre esteve torcendo por mim. Essa conquista é nossa. Aos meus tio Liordete e Ofir, muito obrigada. A confiança, o apoio e amor que vocês sempre me deram, me fizeram sentir totalmente seguras. Eu os amo e agradeço por tudo.

Agradeço as minhas Primas/Irmãs Nanda e Sangue. Vocês são minhas irmãs de outras mães! Hahahah. Eu amo tanto vocês e agradeço demais todo o apoio. É tão bom ver que sempre comemoramos juntas as nossas conquistas. E dessa vez estamos comemorando duas vezes, já que vamos ter mais um membro na família. Sangue, obrigada por nos presentear com o esse bebê que já é imensamente amado. Inclusive, considerando as circunstâncias, acho que esse presente é meu! Hahahah Agradeço a todos os meu primos e primas que de todas as formas sempre torceram por mim. E Frank, eu te amo e agradeço por todo o seu incentivo e apoio. E como de praxe, não poderia deixar de dizer: Sangue é Sangue, Família Mota!

Agradeço a Família Rodrigues Sousa, da qual eu roubei o sobrenome! Hahahah. Eu não tenho palavras para descrever o quanto vocês são incríveis. Eu literalmente ganhei uma nova família. O fato de vocês me apoiarem, torcerem por mim e me permitirem participar dessa família como se fosse de sangue, é tudo que eu jamais pensei que eu queria, mas era exatamente o que eu precisava. D. Luiza, a Sra. é a melhor Sogra desse mundo, e eu sou grata por tudo que faz pela gente e fez por mim durante o doutorado. E é aquela coisa, né... Sogra como a minha, só a minha! Hahahaha. Te amo muito, minha Soooogra! Sogro, muito obrigada por tudo, o Sr. é como um Pai para mim e eu sei que o que eu precisar, o Sr. sempre vai estar lá para me ajudar. Só não pode esquecer meus chaveiros e lembrancinhas senão eu fico brava. Te amo, Sogro. Agradeço aos meus cunhados Suuuuuuu e Chaaato! Olha que esse momento de declarações é raro, então aproveitem... amo vocês e agradeço o apoio e preocupação de sempre. Ah, obrigada pelos meus presentes mais lindos, o Lorenzo e o Ravi, esses sapequinhas fazem a alegria da Titia Tetícia.

O que seria dessa jornada sem aquelas pessoas que compartilharam laboratório comigo, não é mesmo. Agradeço aos meus amigos Carla, Rebeca, Daniel e Angeis. Foram vocês quem fizeram desses quatro anos ainda mais divertidos! Cada risada, cada dificuldade, os almoços juntos e os perrengues (abafa que foram muitos!) representam o fortalecimento da nossa amizade. Carla, obrigada por tudo o que você fez e por confiar tanto em mim. A Rebecca, minha florzinha, que foi o nosso maior presente no laboratório e que tem a melhor risada daquele Campus, o meu singelo agradecimento. Ao Daniel nosso “Bendito o fruto” e que faz todas as nossas vontades, obrigada por todo o apoio. E a minha querida amiga Angeisleine, que me acompanha desde a graduação e que sempre acreditou em mim e fez de tudo para deixar minhas experiências no laboratório mais leve, meus sinceros agradecimentos! Por falar em graduação, existem amizades que permanecem apesar das adversidades do tempo (ou até mesmo da falta dele). São laços que resistem, amadurecem e se fortalecem ao longo dos anos. Gostaria de expressar minha profunda gratidão a Esther Pinto, Mônica Oliveira e Letícia Lima, por terem estado ao meu lado em um momento em que, para muitos, a amizade parecia apenas uma obrigação. Vocês foram extremamente importantes para mim, e o apoio constante que sempre me ofereceram jamais será esquecido. Com vocês, os momentos, sejam bons ou difíceis, sempre vieram acompanhados de muitas risadas, histórias inesquecíveis e lembranças que guardarei com carinho para sempre. Quem diria que uma ocupação do movimento Sem Campus da FCE se transformaria em tantos anos de amizade, não é, Mônica? Foram inúmeras vivências ao longo desse tempo, mas nunca vou esquecer do balão que levei para o seu aniversário, ainda rio só de lembrar! Te amo, Moniquinha. Muito obrigada pelo apoio de sempre!

A volta da Esther para Brasília foi, sem dúvida, uma das melhores notícias de 2025. Nossos encontros nunca foram os mesmos sem você, e sua presença sempre fez falta. Obrigada por ser essa pessoa única, que sabe como ninguém brincar de mímica e tornar qualquer momento mais leve. Te amo, Estherzinha, e pode ter certeza de que sempre, sempre vou te abraçar com os dois braços. Seu apoio e confiança sempre foram muito importantes para mim.

E a Letícia, que além de ser um ser humano incrível, é tão talentosa que chega a ser difícil acompanhar. Assim como você sempre esteve ao meu lado, espero poder te apoiar em cada um dos seus dons e caminhos. Te amo muito e desejo, do fundo do

coração, tudo de melhor na sua vida. E como a própria Letícia bem disse, é nesses momentos que conseguimos enxergar quem realmente quer ser amigo de verdade. Amo vocês, admiro profundamente a trajetória e a vida de cada uma, e sou imensamente grata por todo o carinho, apoio e presença ao longo desse caminho.

Fora do laboratório também tenho anjos amigos que sempre estiveram comigo. A Zoraide, minha amiga irmã desde sempre e para sempre, obrigada por tudo. Te amo, Zozo. A Sabrina Pavelquesi, minha alma gêmea e maior realização de sonho acadêmicos, obrigada por absolutamente tudo. Eu só não te amo mais porque você decidiu me abandonar no doutorado! Hahahaha. Brincadeiras à parte, sua amizade foi uma chave de virada, e você sabe disso.

Agradeço a todos os colegas e profissionais do Laboratório de Inovação e Tecnologias em Saúde (Lab3) e do Laboratório de Patologia Molecular, que foram minha segunda casa e onde descobri o meu amor pela microbiologia.

E conseqüentemente eu agradeço a todos os alunos que me acompanharam durante essa jornada. Vocês fazem parte de tudo o que passei. Os levarei para a vida.

Às minhas Orientadoras Professora Daniela e Professora Izabel. O apoio, dedicação, inspiração e confiança que vocês depositam em mim, me tornou uma profissional imensamente melhor. Eu acho que não consigo descrever em palavras como vocês foram importantes durante todos esses anos, mas saibam que vocês transformaram minha trajetória. Além do orgulho de dizer que vocês são as minhas orientadoras, me sinto abençoada por tantas oportunidades que consegui por meio de vocês. Não teve uma ideia minha sequer que não foi apoiada. Sinceramente espero que um dia eu seja uma profissional tão excelente, dedicada e apaixonada quanto vocês.

Não poderia deixar de agradecer a Capes que me proporcionou a chance de estudar na Johns Hopkins University, no MMI Laboratory, onde eu tive a honra de ser supervisionada pelo Dr. Arturo Casadeval. O doutorado sanduíche sempre fez parte dos meus sonhos acadêmicos, mas passar um período em um laboratório com pesquisadores de todo o mundo foi uma experiência além do que eu poderia imaginar. O Dr. Arturo Casadeval sempre foi muito gentil e atencioso, e isso eu jamais esquecerei. Ele fez de tudo para que minha experiência na JHU fosse a melhor possível. Obrigada por todo o apoio. À Dra. Maggie Wear que me acolheu desde o primeiro dia, dentro e fora do laboratório, deixo minha gratidão eterna. Dra. Maggie

Wear, sentir a confiança que a Sra. me deu em trabalhar com um projeto tão incrível quanto o seu, foi transformador. Poder aprender novas técnicas e aplicar meus conhecimentos e metodologias foi, sem dúvida, uma das partes mais importantes e enriquecedoras de toda a experiência do Doutorado Sanduíche.

No MMI Laboratory tive a hora de trabalhar com o Piotr Stempinsk, Seth Greengo, Gracen Gerbig, Albert Patinõ e Samuel Rodrigues, nosso amigo brasileiro. Vocês foram fundamentais para minha adaptação científica, cultural e pessoal. Espero revê-los em breve, mas dessa vez quem sabe em solo brasileiro! E como a Dra. Maggie Wear me disse no meu último dia em Baltimore, “Once Casadevale, always Casadavale!”

Por fim gostaria de agradecer a Universidade de Brasília, ao Programa de Pós-graduação e ao CNPq que foram parte fundamental para que eu pudesse me manter firme durante esses quatro anos.

“Todo mundo deveria ser aplaudido de pé pelo menos uma vez na vida, porque todos nós vencemos o mundo.”

(R. J Palácio - August Pullman em O extraordinário)

RESUMO

Introdução: A resistência antimicrobiana é reconhecida internacionalmente como um dos principais desafios de saúde pública do século XXI. No contexto da produção de queijos artesanais, falhas nos processos de controle de qualidade podem favorecer a multiplicação de microrganismos patogênicos, uma vez que as características intrínsecas desses alimentos podem permitir sua persistência e crescimento. *Escherichia coli* é um microrganismo ubíquo e oportunista que pode apresentar sorotipos patogênicos, além de abrigar genes de resistência aos antibióticos. Apesar da crescente evidência da presença de cepas de *E. coli* resistentes a antimicrobianos em alimentos de origem animal, ainda são escassos os estudos que integrem a caracterização fenotípica e genotípica da resistência antimicrobiana em queijos artesanais frescos, especialmente em nível regional. **Objetivo:** Este estudo teve como objetivo caracterizar os perfis fenotípico e genotípico de resistência antimicrobiana em 104 isolados de *E. coli* obtidos de 22 amostras de queijos Minas Frescal de produção artesanal coletados no Distrito Federal, Brasil. **Métodos:** A suscetibilidade antimicrobiana dos isolados de *E. coli* foi avaliada utilizando o método de difusão segundo Kirby Bauer e os genes de resistência antimicrobiana foram detectados por métodos de reação em cadeia da polimerase com primers específicos para os antibióticos da classe dos β -lactâmicos (*bla*_{CTX-M}; *bla*_{TEM}; *bla*_{SHV}), tetraciclinas (*tetA*; *tetB*), cloranfenicol (*cat1*; *clmA*) e sulfonamidas (*sul1*; *sul2*). **Resultados:** As maiores taxas de resistência fenotípica foram observadas para sulfonamidas (85,58%; 89/104) e tetraciclinas (38,46%; 40/104). No perfil genotípico, a maioria dos isolados de *E. coli* carregava genes de resistência a sulfonamidas *sul1* e *sul2* (62,50%; 65/104), genes de resistência a tetraciclinas *tetA* e *tetB* (65,38%; 68/104) e genes de resistência aos β -lactâmicos *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM} e *bla*_{SHV} (55,77%; 58/104). Entre os isolados portadores de genes de resistência às sulfonamidas, o gene mais frequente foi *sul1*, presente em 49,04% (51/104) das cepas, sendo que 59,61% (62/104) das cepas de *E. coli* mostraram resistência fenotípica. Para as tetraciclinas, a maioria dos isolados carregava simultaneamente *tetA* e *tetB* (34,61%; 36/104), sendo que 35,56% (37/104) dos isolados foram fenotipicamente resistentes, enquanto 29,80% (31/104) foram suscetíveis. Entre os genes de resistência aos β -lactâmicos, *bla*_{CTX-M} foi o mais detectado, presente em 21,15% (22/104) dos isolados. No entanto, a maioria das cepas de *E. coli* (43,26%; 45/104) mostrou-se fenotipicamente suscetível aos β -lactâmicos avaliados. Para o cloranfenicol, os genes *cat1* e *clmA* foram detectados em 22,12% (23/104) dos isolados, embora apenas 1,92% (2/104) apresentassem resistência fenotípica ao antibiótico. **Conclusão:** Os resultados deste estudo evidenciam a presença significativa de resistência antimicrobiana em isolados de *E. coli* provenientes de queijos Minas Frescal de produção artesanal no Distrito Federal, reforçando a importância do controle sanitário e da adoção de boas práticas de produção e manipulação em queijarias artesanais. Esses resultados destacam a importância de ações integradas de monitoramento, educação sanitária e uso racional de antimicrobianos, contribuindo para a mitigação dos riscos associados à resistência antimicrobiana na cadeia de alimentos de origem animal.

Palavras-chave: contaminação alimentar, produtos lácteos, resistência a antibióticos, vigilância em saúde pública, saúde única.

ABSTRACT

Introduction: Antimicrobial resistance is internationally recognized as one of the major public health challenges of the 21st century. In the context of artisanal cheese production, failures in quality control processes may favor the multiplication of pathogenic microorganisms, as the intrinsic characteristics of these foods can support their persistence and growth. *Escherichia coli* is a ubiquitous and opportunistic microorganism that may present pathogenic serotypes and harbor antibiotic resistance genes. Despite the growing evidence of the presence of antimicrobial-resistant *E. coli* strains in foods of animal origin, studies integrating both phenotypic and genotypic characterization of antimicrobial resistance in fresh artisanal cheeses remain scarce, particularly at the regional level. **Objective:** This study aimed to characterize the phenotypic and genotypic antimicrobial resistance profiles of 104 *E. coli* isolates obtained from 22 samples of artisanal Minas Frescal cheeses collected in the Federal District, Brazil. **Methods:** Antimicrobial susceptibility of the *E. coli* isolates was assessed using the Kirby–Bauer disk diffusion method. Antimicrobial resistance genes were detected by polymerase chain reaction (PCR) using specific primers targeting β -lactam resistance genes (*bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}), tetracycline resistance genes (*tetA*, *tetB*), chloramphenicol resistance genes (*cat1*, *clmA*), and sulfonamide resistance genes (*sul1*, *sul2*). **Results:** The highest phenotypic resistance rates were observed for sulfonamides (85.58%; 89/104) and tetracyclines (38.46%; 40/104). Genotypically, most *E. coli* isolates carried sulfonamide resistance genes *sul1* and *sul2* (62.50%; 65/104), tetracycline resistance genes *tetA* and *tetB* (65.38%; 68/104), and β -lactam resistance genes *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM}, and *bla*_{SHV} (55.77%; 58/104). Among isolates harboring sulfonamide resistance genes, *sul1* was the most frequent, present in 49.04% (51/104), and 59.61% (62/104) exhibited phenotypic resistance. Regarding tetracyclines, most isolates simultaneously carried *tetA* and *tetB* (34.61%; 36/104) and 35.56% (37/104) were phenotypically resistant, whereas 29.80% (31/104) were susceptible. Among β -lactam resistance genes, *bla*_{CTX-M} was the most prevalent, detected in 21.15% (22/104) of isolates. However, most *E. coli* strains (43.26%; 45/104) were phenotypically susceptible to the β -lactams tested. For chloramphenicol, *cat1* and *clmA* were identified in 22.12% (23/104) of isolates, although only 1.92% (2/104) showed phenotypic resistance. **Conclusion:** The findings of this study demonstrate a significant presence of antimicrobial resistance among *E. coli* isolates recovered from artisanal Minas Frescal cheeses in the Federal District, underscoring the importance of sanitary control and the adoption of good production and handling practices in artisanal cheesemaking. These results highlight the need for integrated actions involving surveillance, sanitary education, and rational antimicrobial use, contributing to the mitigation of risks associated with antimicrobial resistance in the food chain of animal origin.

Keywords: food contamination, dairy products, drug resistance, public health surveillance, one health.

RELAÇÃO DE FIGURAS

Figura 1 – Mapa do Brasil com os tipos de queijos artesanais produzidos por estados, no ano de 2021.	29
Figura 2 – Ação da quimosina e coagulação das micelas de caseína na produção do coalho para produção de queijo.	35
Figura 3 – Informe do Ministério da Saúde e da Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente sobre o Perfil Epidemiológico com série histórica de surtos de Doenças de transmissão hídrica e alimentar no Brasil, durante o período de 2014 a 2023.....	38
Figura 4 – Estruturas morfológicas de <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> e <i>Staphylococcus aureus</i>	46
Figura 5 – Estrutura morfológica de <i>Escherichia coli</i>	54
Figura 6 – Mecanismos de transmissão horizontal de resistência bacteriana.....	61
Figura 7 – Estrutura antigênica de <i>Escherichia coli</i> patogênica.	65
Figura 8 – Mecanismo de ação dos antibióticos β -lactâmicos inibindo a síntese da parede celular bacteriana.....	67
Figura 9 – Mecanismos de resistência antimicrobiana ao grupo dos antibióticos β -lactâmicos.	70
Figura 10 – Representação da estrutura genética de <i>Escherichia coli</i> contendo os genes de resistência <i>bla_{CTX-M}</i> , <i>bla_{TEM}</i> e <i>bla_{SHV}</i>	71
Figura 11 – Mecanismo de ação das tetraciclina inibindo a síntese proteica bacteriana.....	72
Figura 12 – Mecanismos de resistência as tetraciclina por bomba de efluxo.	76
Figura 13 – Estrutura das quinolonas e fluoroquinolonas.	77
Figura 14 – Mecanismo de ação da DNA girase e da topoisomerase IV na síntese de DNA bacteriano e mecanismo de ação das quinolonas.	79
Figura 15 – Inibição do centro da peptidiltransferase do ribossomo pelo antibiótico cloranfenicol.	82
Figura 16 – Estrutura de vetores de sondagem e do plasmídeo de expressão do cassete de resistência ao cloranfenicol (<i>cmIA</i>).....	85
Figura 17 – Estrutura molecular das sulfonamidas e derivados pela substituição do grupamento 'R' da p-aminobenzenossulfonamida.	87

Figura 18 – Mecanismo de ação das sulfonamidas sobre a enzima dihidropteroato sintase.....	89
Figura 19 – Estrutura do íntegron de classe 1 (Tn402) contendo o gene de resistência às sulfonamidas sul1.....	90
Figura 20 – Distribuição da resistência antimicrobiana fenotípica por feiras permanentes.....	124
Figura 21 – Distribuição da resistência antimicrobiana genotípica por feiras permanentes.....	125
Figura 22 – Distribuição de genes de resistência antimicrobiana nas amostras de queijo.....	126

RELAÇÃO DE TABELAS

Tabela 1 – Perfil de resistência antimicrobiana das cepas de <i>Escherichia coli</i> frente aos antibióticos da classe dos β -lactâmicos.....	104
Tabela 2 – Perfil de resistência antimicrobiana das cepas de <i>Escherichia coli</i> frente a tetraciclina.	109
Tabela 3 – Perfil de resistência antimicrobiana das cepas de <i>Escherichia coli</i> frente ao cloranfenicol.	113
Tabela 4 – Perfil de resistência antimicrobiana das cepas de <i>Escherichia coli</i> frente a sulfonamida.....	117
Tabela 5 – Perfis genotípicos de resistência antimicrobiana de cepas de <i>Escherichia coli</i> isoladas de queijos Minas Frescal de produção artesanal comercializados no Distrito Federal.....	121

RELAÇÃO DE QUADROS

Quadro 1 – Doenças transmitidas por água e alimentos, patógenos relacionados, via de transmissão e manifestações clínicas.	44
Quadro 2 – Sequência dos primers e tamanho do produto amplificado para a identificação de <i>Escherichia coli</i>	94
Quadro 3 – Quantidades e reagentes utilizados para a detecção de genes de confirmação das cepas de <i>Escherichia coli</i>	95
Quadro 4 – Antimicrobianos, concentrações utilizadas e valores de referência para a interpretação das zonas de inibição no teste de suscetibilidade antimicrobiana de <i>Escherichia coli</i>	96
Quadro 5 – Quantidades e reagentes utilizados para a detecção de genes de resistência das cepas de <i>Escherichia coli</i>	97
Quadro 6 – Desenho dos <i>primers</i> e condições da termociclagem da reação em cadeia de polimerase para a detecção de genes de resistência das cepas de <i>Escherichia coli</i>	98
Quadro 7 – Antimicrobianos e genes de resistência antimicrobiana testados para as cepas de <i>Escherichia coli</i>	100

RELAÇÃO DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Frequência relativa da ocorrência dos genes de resistência aos antibióticos β -lactâmicos em cepas de <i>Escherichia coli</i>	106
Gráfico 2 – Frequência relativa da ocorrência dos genes de resistência as tetraciclinas em cepas de <i>Escherichia coli</i>	111
Gráfico 3 – Frequência relativa da ocorrência dos genes de resistência ao cloranfenicol em cepas de <i>Escherichia coli</i>	115
Gráfico 4 – Frequência relativa da ocorrência dos genes de resistência a sulfonamida em cepas de <i>Escherichia coli</i>	119

RELAÇÃO DE APÊNDICES

Apêndice 1 – Gel de agarose a 2% (p/v) para identificação do gene de confirmação <i>lacZB</i> , corados com brometo de etídio e visualizados sob luz ultravioleta com marcador de peso molecular de 100 pb.	179
Apêndice 2 – Gel de agarose a 2% (p/v) para identificação do gene de confirmação <i>uidA</i> , corados com brometo de etídio e visualizados sob luz ultravioleta com marcador de peso molecular de 100 pb.	180
Apêndice 3 – Gel de agarose a 2% (p/v) para identificação do gene de resistência <i>bla_{CTX-M}</i> , corados com brometo de etídio e visualizados sob luz ultravioleta com marcador de peso molecular de 100 pb.	181
Apêndice 4 – Gel de agarose a 2% (p/v) para identificação do gene de resistência <i>bla_{TEM}</i> , corados com brometo de etídio e visualizados sob luz ultravioleta com marcador de peso molecular de 100 pb.	182
Apêndice 5 – Gel de agarose a 2% (p/v) para identificação do gene de resistência <i>bla_{SHV}</i> , corados com brometo de etídio e visualizados sob luz ultravioleta com marcador de peso molecular de 100 pb.	183
Apêndice 6 – Gel de agarose a 2% (p/v) para identificação do gene de resistência <i>tetA</i> , corados com brometo de etídio e visualizados sob luz ultravioleta com marcador de peso molecular de 100 pb.	184
Apêndice 7 – Gel de agarose a 2% (p/v) para identificação do gene de resistência <i>tetB</i> , corados com brometo de etídio e visualizados sob luz ultravioleta com marcador de peso molecular de 100 pb.	185
Apêndice 8 – Gel de agarose a 2% (p/v) para identificação do gene de resistência <i>cat1</i> , corados com brometo de etídio e visualizados sob luz ultravioleta com marcador de peso molecular de 100 pb.	186
Apêndice 9 – Gel de agarose a 2% (p/v) para identificação do gene de resistência <i>clmA</i> , corados com brometo de etídio e visualizados sob luz ultravioleta com marcador de peso molecular de 100 pb.	187
Apêndice 10 – Gel de agarose a 2% (p/v) para identificação do gene de resistência <i>sul1</i> , corados com brometo de etídio e visualizados sob luz ultravioleta com marcador de peso molecular de 100 pb.	188

Apêndice 11 – Gel de agarose a 2% (p/v) para identificação do gene de resistência <i>su12</i> , corados com brometo de etídio e visualizados sob luz ultravioleta com marcador de peso molecular de 100 pb.	189
--	-----

RELAÇÃO DE SIGLAS E ABREVIATURAS

– SO ₂	Grupo Funcional da Sulfonila
– SO ₂ NH ₂	Grupo Funcional da Sulfonamida
%	Frequência
°C	Graus Celcius
β	Beta
μL	Microlitros
μM	Micromolar
μm	Micrômetro
μg	Micrograma
3' – CS	Segmento de Íntegron de Classe 1
aEPEC	<i>Escherichia coli</i> enteropatogênica atípica
AcCoa	Acetil Coenzima A
AIEC	<i>Escherichia coli</i> com Aderência Invasiva
AMC	Amoxicilina com ácido clavulânico
Anvisa	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APPCC	Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle
AWaRe	Classificação dos Antimicrobianos segundo a Anvisa – Access, Watch, e Reserve
BFA	Boas Práticas de Fabricação
BPA	Boas Práticas Agropecuárias
BRA	Bactérias Resistentes aos Antibióticos
Caldo EC	Caldo <i>Escherichia coli</i>
CA	Califórnia
CAZ	Ceftazidima
CDC	Centro de Controle e Prevenção de Doenças
CFs	Fatores de colonização
CIP	Ciprofloxacina
CLO	Cloranfenicol
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CTX	Cefotaxima

DAEC	<i>Escherichia coli</i> com Aderência Difusa
DALYs	Disability Adjust Life Years – anos de vida ajustados por incapacidade
DEC	<i>Escherichia coli</i> diarreogênica
DHPP	Cofator 6-hidroximetil-7,8-di-hidropterina pirofosfato
DHPS	Enzima diidropteroato sintase
DNA	Ácido desoxirribonucleico
dNTP	Desoxirribonucleotídeos trifosfato
DTHA	Doenças Transmitidas por Alimentos
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EAEC	<i>Escherichia coli</i> enteroagregativa
EEs	Enterotoxinas estafilocócicas
EHEC	<i>Escherichia coli</i> enterohemorágica
EIEC	<i>Escherichia coli</i> enteroinvasiva
EPEC	<i>Escherichia coli</i> enteropatogênica
EPS*	Exopolissacarídeo
ESBL	β -lactamases de Espectro Estendido
ESP	Evento de Saúde Pública
EtBr	Brometo de Etídio
ETEC	<i>Escherichia coli</i> enterotoxigênica
<i>Et al.</i>	Colaboradores
EUA	Estados Unidos da América
ExPEC	<i>Escherichia coli</i> extraintestinal
F:	Foward
g	Gram
GEN	Gentamicina
GLASS	Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System – Sistema Global de Vigilância de Resistência e uso de Antimicrobiana
GRA	Gene de Resistencia Antimicrobiana
GSK	Glycogen Synthase Kinase – Glicogênio Sintase Quinase
k	Kilos
IDSA	Infectious Diseases Society of America – Sociedade de Doenças Infeciosas da América
IMP	Imipenem

IN	Instrução Normativa
Intl 1	Íntegron de Classe 1
ISTM	International Society of Travel Medicine – Sociedade Internacional da Medicina de Viagem
Lac+	Cepa Degradadora de Lactose
LPS	Lipopolissacarídeos
LT	Enterotoxina Termolábil
MA	Massachusetts
MAPA	Ministério da Agricultura e Pecuária
MDR	Multirresistente
Met106	Metionina
MG	Minas Gerais
MgCl ₂	Cloreto de Magnésio
mm	milímetro
Min.	Minutos
mL	Mililitros
mM	Milimolar
MNEC	<i>Escherichia coli</i> Associada a Meningite e Sepse
Modelo TC	Termo Cycler
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistentes à meticilina
ng	Nanograma
ng/μL	Nanograma por Microlitro
nm	nanômetro
NMP	Número Mais Provável
OMC	Organização Mundial do Comércio
OMPS	Proteínas da Membrana Externa
OMS	Organização Mundial de Saúde
OMSA	Organização Mundial de Saúde Animal
ONU	Organização das Nações Unidas
ONUAA	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
OriT	Origem de Transferência
PA	Pensilvânia
PABA	Ácido para-aminobenzóico

pb	Pares de Base
PBP	Proteína ligadora de penicilina – enzimas transpeptidase
PCR	Reação da Cadeia em Polimerase
pH	Potencial Hidrogeniônico
Phe105	Fenilalanina
PNCEBT	Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal
PNUMA	Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente
PTC	Peptidyl Transferase Center – Centro Funcional da Enzima peptidiltransferase
p/v	Porcentagem de Peso por Volume
QRDR	Quinolone Resistance-Determining Region – Regiões Determinantes de Resistência as Quinolonas
R:	Reverse
RAM	Resistência Antimicrobiana
Rename	Relação Nacional de Medicamentos Essenciais
RNA	Ácido Ribonucleico
rRNA	Ácido Ribonucleico ribossomal
s.	Segundos
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. entérica</i>	<i>Salmonella entérica</i>
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
SISBI	Sistema de Gestão dos Serviços de Inspeção
SISBI-POA	Sistema Brasileiro de Inspeção de Produtos de Origem Animal
SHI	Síndrome Hemolítico – Urêmica
ST	Enterotoxina Termoestável
STEC	<i>Escherichia coli</i> Produtora de Toxina Shiga
SUASA	Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária
SUL	Sulfonamida
STEC	<i>Escherichia coli</i> produtora da toxina Shiga
SVSA	Secretária de Vigilância em Saúde e Ambiental
TET	Tetraciclina
THF	Tetraidrofolato

TsaAMR	Resistência Antimicrobiana Adquirida Transitoriamente Silenciosa
TSST-1	Toxina Da Síndrome Do Choque Tóxico
U/μL	Unidades por Microlitro
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UNESCO	Organização das Nações Unidas para a Educação, a Ciência e a Cultura
UPEC	<i>Escherichia coli</i> uropatogênica
UV	Ultravioleta
V	Volts
VE – DTHA	Vigilância Epidemiológica das Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar
VRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> Resistente à Vancomicina

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	26
2	REVISÃO DA LITERATURA	29
2.1	PANORAMA DA PRODUÇÃO DE QUEIJO ARTESANAL NO BRASIL	29
2.2	MICROBIOTA E QUALIDADE DOS QUEIJOS	31
2.3	DOENÇAS DE TRANSMISSÃO HÍDRICA E ALIMENTAR: ESTIMATIVAS GLOBAIS E IMPLICAÇÕES PARA A VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA	36
2.4	REGULAMENTAÇÃO DOS QUEIJOS ARTESANAIS.....	40
2.5	PRINCIPAIS PATÓGENOS RELACIONADOS ÀS DOENÇAS DE TRANSMISSÃO HÍDRICA E ALIMENTAR POR CONSUMO DE LEITE E QUEIJOS CONTAMINADOS	43
2.6	<i>Escherichia coli</i>	53
2.7	RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA (RAM).....	58
2.7.1	Resistência antimicrobiana em <i>Escherichia coli</i>: variabilidade, transferência genética e relevância epidemiológica.....	62
2.7.1.1	Resistência antimicrobiana aos β-lactâmicos	66
2.7.1.2	Resistência antimicrobiana as tetraciclinas	72
2.7.1.3	Resistência antimicrobiana as quinolonas	77
2.7.1.4	Resistência antimicrobiana aos fenicóis	82
2.7.1.5	Resistência antimicrobiana as sulfonamidas	86
3	OBJETIVOS	91
3.1	OBJETIVO GERAL.....	91
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	91
4	METODOLOGIA.....	92
4.1	COLETA DAS AMOSTRAS DE QUEIJO ARTESANAL MINAS FRESCAL..	92
4.2	ENUMERAÇÃO DE COLIFORMES TERMOTOLERANTES E ISOLAMENTO DE <i>Escherichia coli</i>	92
4.3	EXTRAÇÃO DE DNA BACTERIANO DE <i>Escherichia coli</i>	93
4.4	IDENTIFICAÇÃO DE <i>Escherichia coli</i>	94
4.5	PERFIL DE SUSCETIBILIDADE ANTIMICROBIANA DE <i>Escherichia coli</i> ...	95
4.6	DETECÇÃO DOS GENES DE RESISTÊNCIA EM <i>Escherichia coli</i>	97
4.7	PRIMERS UTILIZADOS E CONDIÇÕES DA REAÇÃO EM CADEIA DE POLIMERASE PARA A DETECÇÃO DE GENES DE RESISTÊNCIA DAS CEPAS DE <i>Escherichia coli</i>	97

4.8	ELETROFORESE EM GEL DE AGAROSE	99
4.9	ASSOCIAÇÃO ENTRE A CLASSE ANTIMICROBIANA E OS GENES DE RESISTÊNCIA TESTADOS NAS CEPAS DE <i>Escherichia coli</i>	100
4.10	ANÁLISE ESTATÍSTICA	100
4.11	UTILIZAÇÃO DE INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL PARA BUSCAR ARTIGOS	101
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	102
5.1	IDENTIFICAÇÃO DA ESPÉCIE <i>Escherichia coli</i> (GENES <i>lacZB</i> e <i>uidA</i>)	102
5.2	RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS β-LACTÂMICOS E IDENTIFICAÇÃO DOS GENES <i>bla_{CTX-M}</i>, <i>bla_{TEM}</i> e <i>bla_{SHV}</i> NAS CEPAS DE <i>Escherichia coli</i>	103
5.3	RESISTÊNCIA AO ANTIMICROBIANO TETRACICLINA E IDENTIFICAÇÃO DOS GENES <i>tetA</i> e <i>tetB</i> NAS CEPAS DE <i>Escherichia coli</i>.....	108
5.4	RESISTÊNCIA AO ANTIMICROBIANO CLORANFENICOL E IDENTIFICAÇÃO DOS GENES <i>cat1</i> e <i>clmA</i> NAS CEPAS DE <i>Escherichia coli</i>.....	113
5.5	RESISTÊNCIA AO ANTIMICROBIANO SULFONAMIDA E IDENTIFICAÇÃO DOS GENES <i>sul1</i> e <i>sul2</i> NAS CEPAS DE <i>Escherichia coli</i>	116
5.6	PADRÕES GENOTÍPICOS DE RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA IDENTIFICADOS NAS CEPAS DE <i>Escherichia coli</i>.....	121
6	CONCLUSÃO.....	127
	REFERÊNCIAS	128
	APÊNDICE	179
	ANEXO	190

1 INTRODUÇÃO

O Brasil destaca-se como o maior produtor de leite da América do Sul, o quarto maior do mundo e um dos cinco principais produtores globais, com uma produção anual que ultrapassa 34 bilhões de litros de leite (Carneiro *et al.*, 2022; Castro, 2023). Entre os derivados lácteos, o queijo Minas Frescal, que é um produto tipicamente brasileiro, ocupa a terceira posição em consumo nacional, sendo popular pela ampla disponibilidade e pelo baixo custo no mercado interno (Siqueira, 2021).

O queijo Minas Frescal é caracterizado por uma massa crua de textura macia, aparência branca e sabor levemente ácido e salgado (Rocha *et al.*, 2020). Trata-se de um queijo fresco (não passa por processo de maturação) possui alto teor de umidade (até 58%), teor médio de gordura (até 19%) e pH próximo da neutralidade. Sua produção consiste na coagulação enzimática do leite de vaca utilizando coalho e/ou outras enzimas coagulantes apropriadas (Teider *et al.*, 2019; Rocha *et al.*, 2020; Silva, 2005).

De acordo com Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do leite e derivados, a produção do queijo Minas Frescal deve ser realizada apenas com leite que foi submetido à pasteurização ou a um tratamento térmico equivalente para garantir a segurança do produto. A comercialização desses queijos elaborado a partir de leite cru não é permitida, uma vez que apresentam um alto risco de contaminação alimentar. Devido à ausência de maturação e ao alto teor de umidade, o queijo deve ser armazenado em temperatura adequada de refrigeração (não excedendo 8 °C) e apresentar vida de prateleira reduzida (aproximadamente 15 dias) (Antoszewska *et al.*, 2024; Mercosul, 2004).

No Brasil, o queijo Minas Frescal de produção industrial é produzido a partir de leite pasteurizado, comercializado em supermercados sob refrigeração e envoltos em embalagens que apresentam o selo do serviço de inspeção sanitária. Já o mesmo tipo de queijo elaborado por produção artesanal geralmente é fabricado em pequenas propriedades rurais e vendido em feiras livres e mercados locais. Esses queijos artesanais, são comumente comercializados sem rotulagem adequada, sem o controle de temperatura e muitas vezes produzidos com leite cru, além de manipulados em condições higiênico-sanitárias insatisfatórias. Diversos estudos apontam a presença recorrente de microrganismos patogênicos nesses produtos,

especialmente *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*, frequentemente associados aos surtos de doenças de transmissão hídrica e alimentar. (De Campos *et al.*, 2018; Camargo *et al.*, 2021; Cardozo *et al.*, 2021; De Campos *et al.*, 2018; Oliveira *et al.*, 2021).

Estudos têm apontado que queijos artesanais produzidos em diferentes regiões do Brasil não atendem aos critérios microbiológicos estabelecidos pela legislação nacional, principalmente devido aos altos níveis de *S. aureus* e *E. coli* (Camargo *et al.*, 2021; Oliveira *et al.*, 2021; Pineda *et al.*, 2021). *E. coli* vive predominantemente como microrganismo comensal do trato intestinal de humanos e de animais homeotérmicos. Entretanto, determinadas cepas podem adquirir fatores de virulência e se tornar patogênicas, configurando-se como importantes agentes de infecções gastrointestinais em humanos, geralmente transmitidas por água e alimentos contaminados. Por sua origem fecal e ampla disseminação no ambiente, a *E. coli* é amplamente utilizada como indicador microbiológico de contaminação por enteropatógenos em alimentos e em água (De Campos *et al.*, 2018; Pakbin *et al.*, 2021; Pena *et al.*, 2021).

As cepas de *E. coli* apresentam alta prevalência de resistência antimicrobiana (RAM), tanto nas comensais quanto naquelas portadoras de fatores de virulência. Sua ampla disseminação em diferentes nichos ambientais e de hospedeiros, aliada à capacidade de adquirir e transmitir genes de resistência por mecanismos de transferência horizontal, reforçam a necessidade de monitoramento contínuo de seus perfis fenotípicos e genotípicos de resistência. Além disso, devido ao papel central que essa espécie desempenha na disseminação de determinantes de resistência entre os microrganismos, a *E. coli* é amplamente adotada como um microrganismo sentinela em programas de vigilância e estudos epidemiológicos voltados à RAM (Fang *et al.*, 2019; Poirel *et al.*, 2018).

Portanto, é fundamental determinar e caracterizar os perfis genotípicos de RAM, tanto em bactérias fenotipicamente resistentes quanto suscetíveis, já que muitas cepas carregam genes silenciosos que não são expressos na resistência fenotípica, mas podem ser disseminados por transferência horizontal e se tornarem ativos em um novo hospedeiro. Essa possibilidade reforça a necessidade de abordagens integradas que considerem tanto a resistência expressa quanto os

determinantes genéticos latentes (Deekshit; Srikumar, 2022; Lipszyc *et al.*, 2022; Stasiak *et al.*, 2021; Vk *et al.*, 2019; Wu *et al.*, 2025).

Diante do elevado consumo de queijo Minas Frescal, das fragilidades sanitárias associadas à produção artesanal e da relevância das cepas de *E. coli* como microrganismo sentinela da resistência antimicrobiana, torna-se um problema relevante a ausência de dados integrados sobre os perfis fenotípicos e genotípicos de resistência antimicrobiana em isolados provenientes desses produtos, especialmente em nível regional, o que dificulta a avaliação do risco sanitário e o estabelecimento de estratégias eficazes de vigilância e controle.

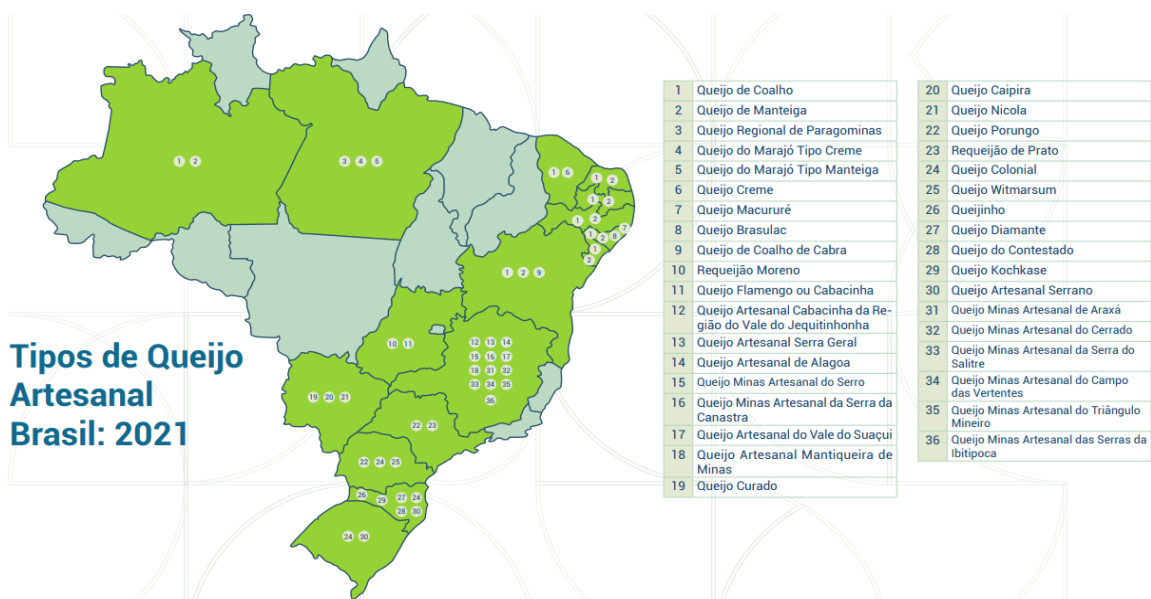
2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 PANORAMA DA PRODUÇÃO DE QUEIJO ARTESANAL NO BRASIL

O Brasil tem se destacado como o quarto maior produtor de queijos do mundo, com um volume de produção anual estimado em 804 mil toneladas (Associação Brasileira Das Indústrias De Queijo, 2021). A produção de queijos ocorre por meio da coagulação enzimática do leite de vaca, cabra, ovelha ou búfala (Hou *et al.*, 2024), utilizando-se o coalho, que contém enzimas específicas (proteases) geralmente produzidas por bactérias ou fungos, como *Bacillus stearothermophilus* e *Aspergillus oryzae*. A coagulação enzimática do leite pode ainda ser complementada pela ação do ácido láctico, formado a partir da atividade de culturas de bactérias lácticas adicionadas ao leite (Hosken *et al.*, 2023; Kumar *et al.*, 2024; Teider *et al.*, 2019).

Embora existam regiões com maior tradição na pecuária leiteira, a fabricação de queijos artesanais está presente em todo o Brasil. Os queijos típicos variam conforme a localidade, apresentando diferenças tanto nas técnicas de elaboração quanto nos ingredientes utilizados, que podem manter métodos ancestrais ou incluir adaptações modernas. Na Figura 1 é possível observar, por estado, os tipos de queijos mais frequentes no Brasil (Embrapa, 2021; Silemg, 2021).

Figura 1 – Mapa do Brasil com os tipos de queijos artesanais produzidos por estados, no ano de 2021.



Fonte: Embrapa, 2021.

Existem indícios de que a tradição de produção dos queijos artesanais brasileiros tenha sido introduzida por influências portuguesas, mais especificamente com técnicas típicas da Serra da Estrela¹ – Portugal (Brasil, 2006; Pellin *et al.*, 2016). A introdução das técnicas europeias de fabricação de queijos na América Latina ocorreu durante o processo de colonização, quando os colonizadores tentaram reproduzir produtos tradicionais do Velho Mundo² em solo latino-americano. No entanto, a combinação de fatores como o clima, as limitações de infraestrutura, a alimentação e as raças locais dos animais, além da presença de uma microbiota regional específica, impediu a reprodução exata dos queijos europeus. Isso levou ao surgimento de novas variações, que resultaram em queijos com identidade própria. (Pellin *et al.*, 2016; Penna *et al.*, 2021).

Portanto, a produção de queijos artesanais no território brasileiro além de ser importante para a economia das regiões onde está inserida, também reflete um legado cultural e social próprio (Araújo *et al.*, 2020). A produção de queijos artesanais ocorre, na maioria dos casos, em propriedade rurais conduzidas por pequenos agricultores e suas famílias (Nascimento, Cruz e Calvi, 2019).

O valor comercial dos queijos artesanais aumentou significativamente nos últimos anos, principalmente pelo reconhecimento de qualidade associado a premiações internacionais, como as ocorridas em 2017 e 2018. E pela medalha de ouro conquistada em 2021 no *Le Mondial du Fromage et des Produits Laitiers*, um renomado festival de exposição de queijos e laticínios realizado na França (Allaion *et al.*, 2021).

O Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional (Iphan) reconheceu o “Modo Artesanal de Fazer Queijo de Minas” como patrimônio cultural e imaterial brasileiro, desde 2008, inicialmente abrangendo as regiões do Serro, Serra da Canastra e Serra do Salitre (Brasil, 2014; Pereira, 2012). Esse reconhecimento ganhou dimensão internacional em dezembro de 2024, durante a 19ª Sessão do Comitê Intergovernamental da Convenção para a Salvaguarda do Patrimônio Cultural Imaterial da Organização das Nações Unidas para a Educação, a Ciência e a Cultura

¹ As técnicas típicas da Serra da Estrela - Portugal, são os métodos artesanais usados para a produção do Queijo Serra da Estrela, um dos queijos mais tradicionais de Portugal. A produção desse queijo envolve práticas específicas que refletem o saber tradicional da região.

² O termo "produtos do Velho Mundo" refere-se a alimentos, animais e técnicas agrícolas originários da Europa, Ásia e África que foram introduzidos nas Américas após o início da colonização europeia no final do século XV.

(UNESCO), realizada em Assunção, Paraguai, onde os "Modos de Fazer o Queijo Minas Artesanal" foram oficialmente reconhecidos como Patrimônio Cultural Imaterial da Humanidade (Unesco, 2024).

O estado de Minas Gerais lidera a produção leiteira nacional, sendo responsável por 26,8% da produção, o equivalente a 35.375.235 toneladas de leite. Minas Gerais também é classificada como o principal polo de produção de Queijo Minas Artesanal e as microrregiões do Triângulo Mineiro/Alto Parnaíba, Sul/Sudeste, Zona da Mata e Vale do Rio Doce são reconhecidas por essa tradicionalidade (IBGE, 2025). O reconhecimento nacional da tradição de produção de queijos artesanais, em especial do Queijo do Tipo Minas, foi oficializado por registros da Coordenação de Indicação Geográfica de Produtos Agropecuários do Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA), onde ficou estabelecido que o queijo mineiro integra o grupo de alimentos com singularidades de produção inerentes ao seu território de origem (Brasil, 2024a).

O queijo Minas Frescal é um produto tipicamente brasileiro, ocupando a terceira posição no consumo nacional de queijos, com alta oferta e baixo custo no mercado (Siqueira, 2021). Esse queijo é caracterizado por ter uma massa crua coalhada, alto teor de umidade (55 a 58%), textura macia, aparência esbranquiçada, ser levemente ácido (pH entre 5,0 e 5,3), salgado e semigordo (17 a 19% de gordura) (Rocha *et al.*, 2020; Silva, 2005).

O queijo Minas Frescal é majoritariamente produzido de forma industrial e as produções artesanais devem seguir a regra do uso de leite pasteurizado (Brasil, 2017a; Mercosul, 2004). Vale destacar que o queijo Minas Frescal, apesar do nome semelhante, difere do Queijo Minas Artesanal. Enquanto o primeiro é frequentemente produzido em escala industrial, com elevada umidade e sem processo de maturação, o segundo é elaborado com leite cru e sofre processo de maturação por tempo suficiente para haver eliminação da microbiota patogênica contaminante (Brasil, 1997; Minas Gerais, 2020).

2.2 MICROBIOTA E QUALIDADE DOS QUEIJOS

Além dos fatores culturais, históricos e geográficos que moldaram a identidade dos queijos brasileiros, especialmente os artesanais, a microbiota presente durante sua produção exerce papel determinante na definição das características sensoriais,

nutricionais e de segurança do produto. Os microrganismos, tanto adicionados intencionalmente quanto provenientes do ambiente e do leite cru, são responsáveis por processos bioquímicos fundamentais na coagulação, maturação e desenvolvimento de aroma e textura dos queijos (Nicosia *et al.*, 2023; Silva *et al.*, 2023).

Assim, os microrganismos desempenham papel central na produção de laticínios fermentados, podendo ser adicionados como culturas iniciadoras ou fazer parte da microbiota natural do leite, sendo comum encontrar no leite microrganismos psicotróficos³, como os gêneros *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Aeromonas*, *Serratia*, *Alcaligenes*, *Chromobacteriu*, *Flavobacterium*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus* e *Microbacterium* spp. (Bettera *et al.*, 2023; Oliveira *et al.*, 2015; Silva *et al.*, 2018).

Para o queijo Minas Frescal a legislação brasileira vigente não permite a produção com o uso de leite cru. Assim, é obrigatório a utilização de leite pasteurizado⁴, com o objetivo de garantir a inocuidade do produto e a segurança do consumidor (Brasil, 2017a). Como a microbiota do leite é drasticamente diminuída pelos tratamentos térmicos aplicados, o uso de culturas *starters*⁵ (ou culturas iniciadoras) se torna essencial para promover uma fermentação mais controlada e previsível dos laticínios fermentados como iogurte e queijo (University of Guelph, 2018).

As culturas iniciadoras geralmente são compostas por bactérias ácido-láticas capazes de utilizar matérias-primas como o leite que contêm altas concentrações de monossacarídeos e dissacarídeos (como é o caso da lactose, composto por glicose e galactose) para a fermentação (Admassie, 2018). As bactérias iniciadoras mais frequentes em queijos são bactérias do ácido-lático dos gêneros *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* e *Enterococcus* e são utilizadas para promover a conversão da lactose em ácido lático, iniciando o processo de coagulação e formando a coalhada. Durante a maturação do queijo passam a predominar as bactérias ácido-

³ Grupo de microrganismos capazes de se desenvolver em temperaturas baixas, embora apresentem temperaturas ótimas de crescimento em 15°C e máxima de 20 °C.

⁴ Leite que passou por processo térmico chamado pasteurização para eliminação de microrganismos patogênicos e, conseqüentemente, redução da carga microbiana total. Esse processo não deve alterar significativamente o sabor, valor nutricional ou composição do produto.

⁵ Culturas *starter* ou culturas iniciadoras são microrganismos utilizados na produção de laticínios fermentados, como iogurte e queijo.

láticas não iniciadoras (*non-starter*), como as do gênero *Lactococcus*, *Pediococcus* e *Leuconostoc*, que predominam na microbiota secundária (Sionek *et al.*, 2023).

Os queijos produzidos a partir de leite cru têm conquistado a preferência de muitos consumidores devido ao seu perfil sensorial mais intenso e complexo em comparação com os queijos elaborados com leite pasteurizado (Duensing *et al.*, 2024). Assim, queijos produzidos a partir de leite cru apresentam maiores concentrações de compostos voláteis, como os ácidos carboxílicos, ésteres e álcoois que resultam no sabor e o aroma característicos dos produtos artesanais (Sakaridis *et al.*, 2022).

Além disso, a diversidade de microrganismos presentes no leite sem pasteurização pode influenciar diretamente nas características sensoriais do queijo, resultando em produtos com sabores únicos. O processo de pasteurização do leite não só inativa os microrganismos, mas também as enzimas como as proteases e lipases, que desempenham um papel importante na intensificação do sabor característico dos queijos artesanais (Sakaridis *et al.*, 2022).

As bactérias ácido-láticas fermentadoras não iniciadoras influenciam diretamente as características sensoriais e a qualidade do queijo, variando conforme o tipo e a região de origem do produto (Coelho, Malcata, Silva, 2022). A fermentação láctica também é considerada uma das formas mais antigas de biopreservação alimentar, já que aumenta a segurança e a vida útil dos alimentos pelo uso controlado dos microrganismos ou dos seus metabólitos. Isso ocorre devido o antagonismo bacteriano, onde as bactérias ácido-láticas competem com microrganismos indesejáveis (Zapašnik, Sokołowska, Bryła, 2022).

As bactérias ácido-láticas também participam ativamente da lipólise e proteólise, liberando ácidos graxos, aminoácidos e compostos voláteis que conferem ao queijo seu perfil sensorial característico. As enzimas lipolíticas presentes nos queijos rompem a ligação éster entre um ácido graxo e o núcleo de glicerol de um triacilglicerídeo, produzindo ácidos graxos livres, além de mono e diacilglicerídeos. A maioria dos ácidos graxos livres gerados pela lipólise atua como precursor de compostos voláteis, como por exemplo as metil-cetonas, alcanonas e lactonas, que desempenham papéis importantes no sabor do queijo. Vale ressaltar que o sabor do queijo é um componente de qualidade particularmente importante na decisão de compra e consumo, muitas vezes se sobrepondo a outros atributos sensoriais, como

a cor e as propriedades reológicas (De Luca *et al.*, 2019; Mei *et al.*, 2015; Rabbani *et al.*, 2025).

Outro ponto importante é que algumas espécies de bactérias ácido-láticas encontradas nos queijos como a *Lactococcus lactis* spp. *cremoris* e *Streptococcus thermophilus* também são culturas que produzem o exopolissacarídeos (EPS⁺). Essas substâncias ajudam a reter água, manter ou aumentar umidade do queijo, melhorar a firmeza e a elasticidade e até mesmo aumentar o rendimento do produto. Os EPS também contribuem para que queijos com baixo teor de gordura tenham textura semelhante à de queijos integrais, além de melhorarem a capacidade de derretimento (pelo aumento da umidade), como acontece com queijos do tipo muçarela (Nepomuceno, Costa Junior, Costa, 2016).

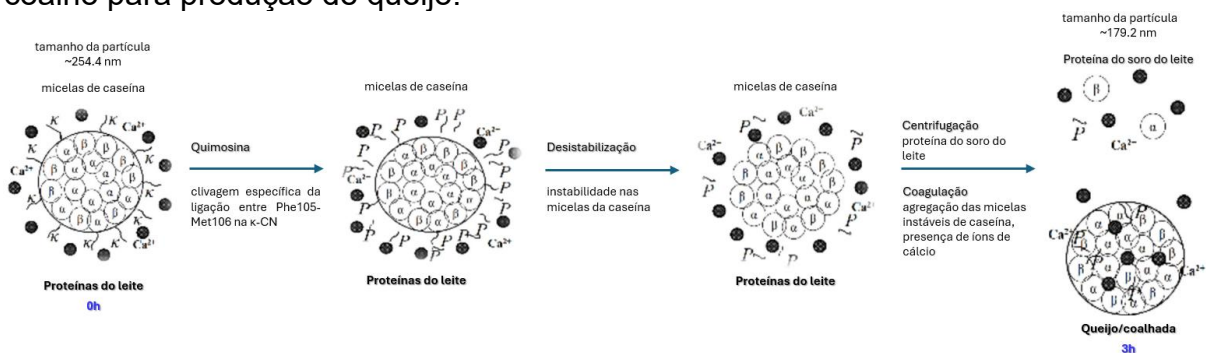
As enzimas mais utilizadas na coagulação do leite por indústrias, pertencem à categoria das proteases aspárticas. A eficiência das proteases está diretamente relacionada às condições físico-químicas do meio, sendo o pH e a temperatura os principais moduladores de sua atividade catalítica. No caso da quimosina sua estabilidade e desempenho são melhores em faixas de pH entre 5,3 e 6,3 e temperatura ótima entre 30 e 40 °C. No entanto, algumas variantes térmicas dessas enzimas apresentam elevada resistência ao calor, o que pode resultar em reações proteolíticas residuais, isto é, a continuação da atividade enzimática proteolíticas após a formação da coalhada do leite ou após a fase desejada de coagulação do leite. Essa atividade residual pode resultar em efeitos negativos durante a maturação do queijo ou em processos de filagem⁶, além de comprometer as características sensoriais do produto por meio da produção de peptídeos amargos, destruição da matriz proteica e liberação de compostos voláteis indesejáveis. Por isso a escolha do coalho é essencial para garantir a qualidade do queijo (Dela Justina, Dela Justina, Skoronski, 2018; Gonçalves, Cardarelli, 2021; Salehi *et al.*, 2017).

A formação da coalhada é uma etapa essencial na produção de queijos, sendo a gelificação induzida por enzimas coagulantes. Esse processo inicia-se com a clivagem específica da fração N-terminal da κ -caseína, localizada na superfície das micelas de caseína, promovida por proteases como a quimosina (Hou *et al.*, 2024). A hidrólise da κ -caseína reduz significativamente a carga negativa das micelas,

⁶ Filagem é uma etapa específica da produção de queijos do tipo pasta filada, como por exemplo a muçarela. O processo de filagem consiste em aquecer e esticar a massa coalhada em água quente ou soro quente até que ela adquira uma textura elástica e fibrosa, e em seguida resfriá-la.

diminuindo a repulsão eletrostática e favorecendo a agregação das micelas na presença de íons de cálcio, resultando na formação de uma rede de gel coesa e tridimensional (a coalhada) (Nájera-Domínguez *et al.*, 2022). A quimosina, ao cortar especificamente a ligação entre os resíduos de fenilalanina (Phe105) e metionina (Met106) da κ -caseína, permite a formação de uma coalhada com boa firmeza e textura, características essenciais para a qualidade do queijo (Figura 2) (Chen *et al.*, 2021).

Figura 2 – Ação da quimosina e coagulação das micelas de caseína na produção do coalho para produção de queijo.



Fonte: Traduzido e adaptado de Chen *et al.*, 2021.

Legenda: Nm – nanômetros; Phe105 – fenilalanina; Met106 – metionina; κ -CN – κ -caseína; α – α -caseína; β – beta caseína; \bullet – β -lactoglobulina; κ – κ – caseína; p – para- κ -caseína; Ca^{2+} – íons de cálcio.

Estudos na literatura mostram que no momento da coagulação ocorre atividade antagonista da microbiota presente no leite cru, já que a multiplicação adequada das bactérias ácido-láticas diminui o pH do leite e contribui para o controle da multiplicação de bactérias potencialmente patogênicas, em especial *Staphylococcus* produtores de enterotoxinas, *Escherichia coli* produtora de Toxina Shiga (STEC), *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* e *Campylobacter* spp. (Lucchini *et al.*, 2018; Nunes *et al.*, 2025; Sakaridis *et al.*, 2022).

Embora o leite cru seja amplamente utilizado na produção de queijos artesanais, a pasteurização continua sendo um método eficaz para a eliminação de patógenos presentes no leite, promovendo a redução da carga microbiana e, conseqüentemente, contribuindo para a melhoria da qualidade microbiológica da matéria-prima (Nunes *et al.*, 2025; Sakaridis *et al.*, 2022).

Por isso, o controle rigoroso das condições de produção, a seleção adequada das culturas *starter*, o controle do pH e a pasteurização do leite são estratégias

essenciais para garantir a segurança dos queijos, principalmente os frescos, prevenindo surtos de doenças alimentares associadas a esses patógenos (Chacón-Flores *et al.*, 2023).

2.3 DOENÇAS DE TRANSMISSÃO HÍDRICA E ALIMENTAR: ESTIMATIVAS GLOBAIS E IMPLICAÇÕES PARA A VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA

As Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar (DTHA) são definidas como doenças causadas pela ingestão de água e/ou alimentos contaminados com agentes etiológicos, podendo ocorrer em qualquer etapa da cadeia de produção, distribuição e consumo dos alimentos. Além disso, também podem ser originadas por meio da contaminação ambiental, como por exemplo no caso da poluição de recursos hídricos, do solo ou da atmosfera (WHO, 2025a).

Mais de 250 agentes etiológicos distintos já foram identificados como causadores de DTHA no mundo, representando um importante problema de saúde pública em escala global e causando um impacto socioeconômico considerável através da sobrecarga dos sistemas de saúde, perda de produtividade e prejuízos ao turismo e comércio. Além disso, essas doenças contribuem significativamente para a carga global de doenças e mortalidade (WHO, 2025a).

Dentro do grupo de microrganismos relacionados às DTHA, estão as bactérias patogênicas e suas enterotoxinas, os vírus entéricos, protozoários e helmintos (WHO, 2025b). Os sintomas clínicos mais comuns das DTHA podem incluir dor abdominal, anorexia, náuseas, vômitos, diarreia acompanhada ou não de febre e/ou alterações laboratoriais compatíveis com a doença (Governo do Distrito Federal, 2024a; Governo do Distrito Federal, 2024b).

Vale ressaltar que apesar da maioria dos casos de DTHA se apresentarem como problemas gastrointestinais autolimitados, evoluções mais graves podem afetar os sistemas renal, hepático e neurológico, podendo ser fatais. Embora as doenças diarreicas representem um problema relevante em todo o mundo, os impactos mais graves e frequentes ocorrem, principalmente, em países de baixa e média renda, sendo as crianças menores de 5 anos o grupo mais vulnerável (WHO, 2025a).

Os surtos de DTHA podem ser identificados quando duas ou mais pessoas apresentam sintomas gastrointestinais após a ingestão de alimentos ou água contaminados e originados de uma fonte em comum. Entretanto, em situações

envolvendo patógenos altamente virulentos, como é o caso do *Clostridium botulinum*, *E. coli* O157:H7 e *Vibrio cholerae*, considera-se que a detecção de apenas um caso já justifica a declaração de surto, devido ao risco epidemiológico associado (Neves e Ribeiro, 2023).

No Brasil, a Vigilância Epidemiológica das Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar (VE-DTHA) é feita por meio do monitoramento de casos e surtos. Para isso, ocorre a vigilância de doenças de notificação compulsória, como cólera, botulismo, febre tifoide e toxoplasmose adquirida na gestação e congênita. Os surtos de DTHA, diarreias agudas, infecções por rotavírus e síndrome hemolítico-urêmica são acompanhados em unidades sentinelas⁷ (Governo do Distrito Federal, 2024a; Marques e Trindade, 2021).

Os surtos de DTHA são classificados como Eventos de Saúde Pública (ESP) devido ao seu potencial de representar risco significativo à saúde coletiva e por isso, exige-se a notificação imediata e medidas de controle oportunos em até 24h (Brasil, 2017b). As notificações dos surtos de DTHA são feitas por meio do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN). No entanto, essas doenças apresentam elevada subnotificação, o que dificulta a estimativa real de casos e compromete a resposta das ações de vigilância sanitária (Oliveira e Ferreira, 2021).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), aproximadamente 600 milhões de pessoas adoecem anualmente em todo o mundo devido as DTHA, resultando em cerca de 420 mil mortes por ano. As DTHA acarretam uma perda estimada de 33 milhões de anos de vida ajustados por incapacidade (Disability-Adjusted Life Years – DALYs⁸), pois podem provocar morte prematura, sequelas permanentes, incapacidades e sofrimento, reduzindo significativamente a qualidade e a expectativa de vida da população afetada. Essa carga representa um desafio substancial para os sistemas de saúde pública, especialmente em países de baixa e média renda. Portanto, esses dados reforçam a necessidade urgente de implementar

⁷ refere-se a um modelo de monitoramento realizado em unidades de saúde estratégicas (hospitais ou serviços ambulatoriais) com adesão voluntária, destinado ao acompanhamento de agravos ou agentes etiológicos de interesse em saúde pública, conforme regulamentação da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde (SVS/MS).

⁸ DALYs atribuídos a uma doença ou condição de saúde correspondem à soma dos anos de vida perdidos por morte prematura (years of life lost - YLL) e dos anos vividos com incapacidade (years lived with a disability - YLD), resultantes dos casos prevalentes da doença ou condição em uma determinada população.

estratégias preventivas eficazes e políticas públicas robustas voltadas para a segurança alimentar em âmbito global (WHO, 2020).

Em 2023, foram notificados na Europa um total de 5.791 surtos de DTHA, os quais resultaram em 2.894 hospitalizações e 73 óbitos (o maior número de óbitos associados a surtos alimentares dos últimos 10 anos na Europa). Os principais agentes etiológicos identificados foram *Salmonella* spp., *Bacillus cereus*, *E. coli* STEC e norovírus (European Food Safety Authority, 2024a; EFSA, 2024b). Nos Estados Unidos da América no ano de 2023, o FoodNet (Foodborne Diseases Active Surveillance Network) identificou 29.607 infecções por DTHA, 7.234 hospitalizações e 177 mortes no total (incluindo infecções adquiridas nos EUA e associadas a viagens internacionais), sendo que 15% dos casos estavam associados a viagens internacionais. Considerando apenas as infecções adquiridas domesticamente, a campilobacteriose apresentou a maior incidência, seguida por salmonelose e infecções por STEC (*Shiga toxin–producing Escherichia coli*) (Shah *et al.*, 2023).

No Brasil, o Ministério da Saúde, em parceria com o SINAN e a Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente (SVSA), publicou um informe técnico com o perfil epidemiológico dos surtos de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar (DTHA), abrangendo o período de 2014 a 2023. O relatório inclui dados sobre o número de surtos, indivíduos expostos, casos sintomáticos, hospitalizações, óbitos e letalidade. Essas informações podem ser visualizadas na Figura 3 (Brasil, 2024b).

Figura 3 – Informe do Ministério da Saúde e da Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente sobre o Perfil Epidemiológico com série histórica de surtos de Doenças de transmissão hídrica e alimentar no Brasil, durante o período de 2014 a 2023.

Ano	Nº de surtos	Nº de expostos	Nº de doentes	Nº de hospitalizado	Nº de óbitos	Letalidade
2014	886	124359	15700	2524	9	0,06
2015	673	37165	10676	1453	17	0,16
2016	538	200896	9935	1406	7	0,07
2017	598	47409	9426	1439	12	0,13
2018	597	57297	8406	916	9	0,11
2019	771	17388	9586	1301	10	0,10
2020	292	10548	4600	595	6	0,13
2021	546	17076	8278	639	10	0,12
2022	811	33977	14336	630	10	0,07
2023	1162	27854	19671	1443	31	0,16
Total	6874	573969	110614	12346	121	0,11

Fonte: Brasil, 2024b.

Entre o período de 2014 a 2023, no Brasil, o ano de 2020 registrou o menor número de surtos de DTHA (292 casos), resultado possivelmente associado às medidas sanitárias e restrições impostas pela pandemia de COVID-19 (Nepomuceno *et al.*, 2023). Esses dados reforçam a importância das intervenções não farmacêuticas graduais⁹ e mudanças no sistema de saúde, tanto na incidência, quanto diagnóstico e notificação de doenças transmissíveis (Love *et al.*, 2023; Perra, 2021). Por outro lado, em 2023 observou-se um maior número de surtos (1.162 casos) e óbitos (31), possivelmente justificados pela retomada total das atividades sociais (Brasil, 2024b).

Ainda segundo os dados do Ministério da Saúde (2024) o local de ocorrência de surtos de DTHA com a maior frequência foi a residência (34,0%), seguido por restaurantes e padaria (14,6%). Os principais responsáveis pelos surtos de DTHA foram os alimentos mistos¹⁰ (21,3%), múltiplos alimentos¹¹ (13,1%) e leite e derivados (6,7%). Já os agentes etiológicos mais frequentes nos surtos de DTHA foram *E. coli* (34,8%), *Staphylococcus* spp. (9,7%) e *Salmonella* spp. (9,6%) (Brasil, 2024b).

O menor número de casos de surtos de DTHA registrados no Brasil em relação ao reportado em outras partes do mundo, como EUA e Europa, é possivelmente decorrente das subnotificações. Entretanto, são necessários esforços para aprimorar os sistemas de vigilância brasileiros, uma vez que a notificação de surtos de DTHA é essencial para viabilizar ações de saúde pública eficazes (Finger *et al.*, 2019). A subnotificação aliada a deficiência no controle e fiscalização da qualidade dos alimentos, têm impacto significativo na transmissão das DTHA. Por isso, é fundamental o comprometimento com a qualidade e segurança alimentar dos órgãos de vigilância em saúde e das empresas que produzem e comercializam alimentos, sobretudo os pequenos produtores artesanais (Draeger *et al.*, 2019).

Apesar de valorizados por sua identidade regional e vínculo com a cultura alimentar local, os produtos artesanais como os queijos, podem apresentar problemas sanitários relevantes, principalmente devido à ausência de padronização e

⁹ são medidas de controle epidemiológico que não envolvem medicamentos ou vacinas aplicadas para reduzir os impactos de uma transmissão de doenças infecciosas, como por exemplo a COVID-19. Incluem distanciamento social, uso de máscaras, restrições de mobilidade e higiene reforçada. Essas estratégias são utilizadas quando intervenções médicas diretas não estão disponíveis ou são insuficientes, equilibrando eficácia e impacto socioeconômico.

¹⁰ Formados por ingredientes de diferentes grupos alimentares combinados num mesmo prato, como por exemplo a pizza que podem conter molho de tomate, queijo, farinha de trigo e outros componentes variados.

¹¹ Mais de um tipo de alimento envolvido no surto.

fiscalização dos processos produtivos. Tais fatores tornam os alimentos artesanais potenciais veículos de DTHA (Allaion *et al.*, 2021; Degenhardt *et al.*, 2023; Plefh *et al.*, 2025; Robinson *et al.*, 2018).

2.4 REGULAMENTAÇÃO DOS QUEIJOS ARTESANAIS

O crescente interesse e demanda dos consumidores por queijos artesanais têm proporcionado aos produtores de laticínios novas oportunidades para comercializar e valorizar produtos lácteos diferenciados (D'Amico, 2017). No Chile, o aumento no consumo de queijos tem sido acompanhado por mudanças nas expectativas dos consumidores, impulsionando uma tendência de valorização e diferenciação dos produtos. Nesse contexto, observa-se uma preferência crescente por queijos artesanais, associados a maior qualidade, valor agregado e sofisticação. Assim, entre os atributos mais apreciados pelos consumidores chilenos destacam-se o sabor e a qualidade dos ingredientes, ainda que isso implique um preço mais elevado (Tereucán-Ângulo *et al.*, 2025).

A segurança microbiológica de queijos fabricados com leite sem pasteurização, é um tema amplamente debatido na literatura. Estudos relatam uma forte associação entre o consumo desses produtos e surtos de DTHA (Mendonça *et al.*, 2024; Willis *et al.*, 2022). Embora os consumidores de leite e queijo não pasteurizados representem uma parcela reduzida da população, o risco de desenvolver doenças transmitidas por alimentos é significativamente maior nesse grupo, sendo 838,8 vezes mais elevado para ocorrência de enfermidades e 45,1 vezes mais alto para hospitalizações, quando comparado ao risco observado entre consumidores de produtos pasteurizados (Sakaridis *et al.*, 2022).

Apesar da crescente valorização dos queijos artesanais, considerando os atributos sensoriais e culturais para sua produção, especialmente quando envolve leite cru, é necessário um rigoroso controle sanitário (Albuquerque *et al.*, 2024; Costanzo *et al.*, 2020). Na Coreia do Sul a indústria de laticínios enfrenta constante pressão para gerar lucro a partir do excedente de leite produzido e tem aproveitado o aumento na demanda por queijos artesanais como estratégia para contornar essa situação. Entretanto, a segurança microbiológica dos produtos lácteos artesanais nem sempre recebe a mesma atenção e rigor aplicados aos produtos industrializados, o

que levanta preocupações quanto à inocuidade e controle sanitário desses produtos (Lee *et al.*, 2020).

O termo "artesanal" geralmente refere-se aos alimentos produzidos de forma tradicional, com predominância de trabalho manual e em pequenos lotes, com o mínimo possível de mecanização (Biango-Daniels e Wolfe, 2021). Entretanto, as práticas associadas a esse tipo de produção, como a utilização de leite não pasteurizado, a falta de boas práticas de fabricação e o espaço de produção do queijo próximo ao ambiente da fazenda são fatores de riscos e desafios microbiológicos (D'Amico, 2017).

No ano de 2019, o Brasil instituiu a Lei Nº 13.860, de 18 de julho de 2019, que dispõe sobre a elaboração e a comercialização de queijos artesanais. Esse documento definiu o queijo artesanal como um produto elaborado por métodos tradicionais, vinculado a aspectos territoriais, regionais ou culturais. Em adição, os queijos artesanais devem seguir protocolos específicos de produção e ter a aplicação de boas práticas agropecuárias (BPA) e de fabricação (BPF), além de atender as exigências gerais para comercialização (Brasil, 2019).

Dessa forma, a legislação brasileira reconheceu a importância dos saberes tradicionais e da identidade territorial dos queijos artesanais, ao mesmo tempo que impôs exigências sanitárias robustas. Essa flexibilização normativa representa um avanço significativo na preservação das tradições queijeiras artesanais brasileiras, incorporando, simultaneamente, medidas rigorosas de controle sanitário com o objetivo de proteger a saúde pública (Penna *et al.*, 2021; Pineda *et al.*, 2021). A atual estrutura legal busca assegurar que a expansão da produção artesanal ocorra de maneira segura, reduzindo os riscos microbiológicos. O principal desafio, contudo, reside em equilibrar tradição e segurança alimentar, promovendo produtos autênticos sem comprometer a saúde do consumidor (Allaion *et al.*, 2021).

A legislação brasileira atual permite a venda de queijos artesanais em todo o território nacional, porém estabelece exigências aos produtores como a participação do estabelecimento em programa de controle de mastite bovina, a implantação de boas práticas agropecuárias na produção leiteira, o monitoramento da qualidade e potabilidade da água utilizada, a capacidade de rastreabilidade do produto e, no caso de queijos produzidos com leite cru e maturados por menos de 60 dias, a exigência

de certificação da propriedade rural atestando a ausência de brucelose e tuberculose (Brasil, 2019).

Essas exigências baseiam-se no cumprimento das normas do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT) que além de introduzir as obrigações sanitárias para produção com leite cru, visa reduzir a prevalência e a incidência dessas doenças, com o objetivo de erradicá-las. As medidas sanitárias do PNCEBT são aplicadas ao rebanho de bovinos e bubalinos¹². A brucelose bovina é causada pela *Brucella abortus*, enquanto a tuberculose bovina está associada a infecção por *Mycobacterium bovis* (Brasil, 2017c; Brasil, 2021).

A regulamentação complementar da Lei 13.860/2019 foi definida pelo Decreto nº 11.099/2022 que dispõe sobre a elaboração e a comercialização de produtos alimentícios de origem animal produzidos de forma artesanal (Brasil, 2022a). Além disso, esse documento substituiu o Decreto nº 10.468/2020, atualizando-o e ampliando a regulamentação do Selo Arte¹³ e do Selo Queijo Artesanal¹⁴, sendo este o selo único para produtos artesanais de origem animal. A partir disso, o produtor recebe a permissão da comercialização do seu produto em todo o território nacional, desde que o alimento respeite e mantenha as características culturais e territoriais que definem sua identidade (Brasil, 2020).

Já o Sistema Brasileiro de Inspeção de Produtos de Origem Animal (SISBI-POA), que faz parte do Sistema Unificado de Atenção a Sanidade Agropecuária (SUASA), o qual é regulado pela Portaria do Mapa Nº 672, de 8 de abril de 2024, é responsável por garantir a segurança alimentar, a padronização e a harmonização da inspeção de produtos de origem animal. Esse documento esclarece que a certificação sanitária (SISBI) é distinta da certificação de identidade artesanal (Selo Queijo Artesanal), mas que ambas são necessárias para garantir a comercialização nacional (Brasil, 2024c; Brasil, 2025).

A complexidade da microbiota dos queijos artesanais funciona como fator facilitador de contaminação pós-processamento em pontos de venda, durante o

¹² búbalo ou búfalo (*Bubalus bubalis*), mamífero da família dos bovídeos, geralmente conhecido como um tipo de boi selvagem, nativo da África e Ásia.

¹³ Reconhecimento do produto alimentício artesanal com base em características específicas de identidade, qualidade e em seu processo produtivo tipicamente artesanal.

¹⁴ Reconhecimento dos queijos artesanais produzidos por métodos tradicionais, associados a saberes e valores territoriais, regionais ou culturais, conforme protocolos específicos de elaboração para cada tipo e variedade, com a aplicação de boas práticas agropecuárias e de fabricação artesanal.

transporte aos estabelecimentos comerciais e nas formas de armazenamento, exposição e fatiamento de peças nesses locais. Normalmente, os varejistas compram os queijos inteiros dos produtores e os fracionam para a venda, sendo comum que fiquem armazenados em temperatura ambiente, em vez de refrigerados adequadamente (Lahou e Uyttendaele, 2017; Sauders e D'amico, 2016).

Por isso a identificação e caracterização dos principais agentes etiológicos, associados aos queijos artesanais tornam-se fundamentais para subsidiar medidas de controle microbiológico, prevenir a contaminação e assegurar a inocuidade e segurança desses produtos (Camargo *et al.*, 2021).

2.5 PRINCIPAIS PATÓGENOS RELACIONADOS ÀS DOENÇAS DE TRANSMISSÃO HÍDRICA E ALIMENTAR POR CONSUMO DE LEITE E QUEIJOS CONTAMINADOS

A segurança microbiológica de queijos artesanais é considerada um desafio emergente para a saúde pública, já que sua produção geralmente é realizada sem a devida implementação de controles de qualidade e higiene adequados (Nascimento *et al.*, 2024). A recorrência de agentes etiológicos clássicos e o impacto dos surtos alimentares sobre os grupos populacionais mais vulneráveis como crianças, idosos e imunocomprometidos, reforçam a necessidade de vigilância contínua e da adoção de práticas higiênico-sanitárias rigorosas em todas as etapas do processo produtivo de queijos artesanais (Basak *et al.*, 2024). A identificação e o monitoramento dos principais patógenos mais comuns relacionadas com a ingestão de leite e derivados são essenciais para diminuir, e até mesmo eliminar, os riscos associados ao consumo de queijos artesanais (Lee *et al.*, 2020).

No Quadro 1 estão descritos os principais patógenos, vias de transmissão e manifestações clínicas das DTHA mais comuns relacionadas com a ingestão de leite e derivados.

Quadro 1 – Doenças transmitidas por água e alimentos, patógenos relacionados, via de transmissão e manifestações clínicas.

Doença	Patógeno	Via de transmissão e alimento associado	Manifestações clínicas
Listeriose	<i>Listeria monocytogenes</i>	Ingestão de alimentos como leite cru, queijo fresco, patês de carne, língua de porco em conserva, vegetais crus e salada de repolho (coleslaw).	Desconforto gastrointestinal, febre, dor de cabeça, atalgia, calafrios, linfonodos inchados.
Salmonelose, febre tifoide e paratifoide	<i>Salmonella enterica</i> , <i>Salmonella typhi</i> e <i>Salmonella paratyphi</i>	Transmitido por ingestão de alimentos e água contaminados com material fecal. Exemplos: leite cru, carne, frutos do mar e salada.	Febre alta, vômito, dor de cabeça, dores abdominais, constipação, diarreia, psicose em alguns casos, calafrios, manchas rosadas, tosse.
Intoxicação estafilocócica	<i>Staphylococcus aureus</i>	Consumo de alimentos contendo a toxina. Exemplos: carne, arroz, leite cru e ensopado.	Náusea, vômito, diarreia, prostração, constipação, desconforto abdominal.
Gastroenterite por <i>B. cereus</i>	<i>Bacillus cereus</i>	Ingestão de alimentos contaminados. Exemplos: leite cru e aves cruas ou malcozidas.	Diarreia, náusea, dor abdominal, vômito.
Infecção por <i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>	Consumo de alimentos e água contaminados por matéria fecal. Exemplos: vegetais, leite cru, carne moída.	Vômito, diarreia (com sangue ou muco), náusea, febre, cólicas abdominais.
Yersiniose	<i>Yersinia enterocolitica</i>	Transmitida pelo consumo de produtos suínos (língua, amígdalas, intestino curados ou não), leite e derivados.	Diarreia, vômito, febre, cólica abdominal.
Shigelose (disenteria bacilar)	<i>Shigella dysenteriae</i>	Ingestão de alimentos e água contaminados com matéria fecal: Exemplos: saladas, vegetais, água e leite cru.	Diarreia com sangue, pus e muco, desconforto abdominal, febre, vômito.
Aflatoxicose aguda	<i>Aspergillus flavus</i>	Ingestão de aflatoxina em alimentos contaminados, como leite, cereais variados, sementes oleaginosas, especiarias e nozes.	Náusea, vômito, dor abdominal, convulsões, hepatotoxicidade, imunotoxicidade e teratogenicidade.
Ocratoxicose	<i>Aspergillus ochraceus</i>	Ingestão de alimentos e água contaminados com ocratoxina A (OTA). Alimentos associados incluem, entre outros: vinho, cerveja, café, frutas secas, sucos de uva, carne de porco, aves, laticínios, especiarias e chocolate.	Perda de consciência, febre, convulsão, inflamação do fígado, diarreia.

Fonte: Traduzido de Moi *et al.*, 2022.

A transmissão de microrganismos durante as etapas de fabricação, maturação e armazenamento de queijos pode ocorrer tanto por contaminação direta quanto por contaminação cruzada. Além disso, a exposição a patógenos pode ocorrer em diferentes contextos, incluindo ambientes de varejo e doméstico (Jaramillo-Bedoya *et*

al., 2021; Possas *et al.*, 2021). Assim, é importante destacar que o manuseio inadequado e as práticas incorretas como o armazenamento de queijos frescos em temperaturas superiores a 9 °C pode favorecer a persistência de *L. monocytogenes* e outros microrganismos patogênicos. Esses fatores, aliados à ausência de controle sanitário rigoroso, tornam os queijos artesanais mais suscetíveis à contaminação e à proliferação de patógenos, em comparação aos produtos de fabricação industrial (Evans e Redmond, 2019; Indió *et al.*, 2024).

Ainda que o leite não pasteurizado seja considerado a principal fonte de contaminação de queijos, a formação de biofilme¹⁵ bacteriano em ambientes de processamento de alimentos tem sido relatada como reservatório de patógenos relacionados às DTHA. Além disso, esses biofilmes podem proporcionar aos microrganismos maior tolerância e persistência a desinfetantes, além de facilitar a participação em interações competitivas¹⁶ ou cooperativas¹⁷, tanto entre si quanto com outras espécies microbianas (Schön *et al.*, 2016).

Patógenos como *Salmonella* spp. e *E. coli* estão frequentemente presentes na microbiota intestinal animal, já *S. aureus* pode ser isolado do úbere dos animais de ordenha que estão aparentemente saudáveis e das mãos dos trabalhadores. Enquanto *L. monocytogenes* pode estar presente no ambiente, sendo encontrada no solo. Todos esses patógenos citados podem contaminar facilmente o leite durante o processo de coleta, sendo as práticas agrícolas, em especial a higiene correta durante o processo da ordenha, descrita como procedimento fundamental na redução da contaminação microbiana do leite cru (Costanzo *et al.*, 2020; Perrin *et al.*, 2015).

A bactéria *L. monocytogenes*, pertencente à família Listeriaceae, é um bacilo Gram-positivo com dimensões entre 0,4 e 0,5 µm de largura e 0,5 e 1,2 µm de comprimento (Figura 4A e B), que geralmente aparece em pares ou cadeias curtas. O microrganismo *L. monocytogenes* possui de quatro a seis flagelos peritríquios, composto por monômeros de flagelina que são modificados por glicosilação β-O-

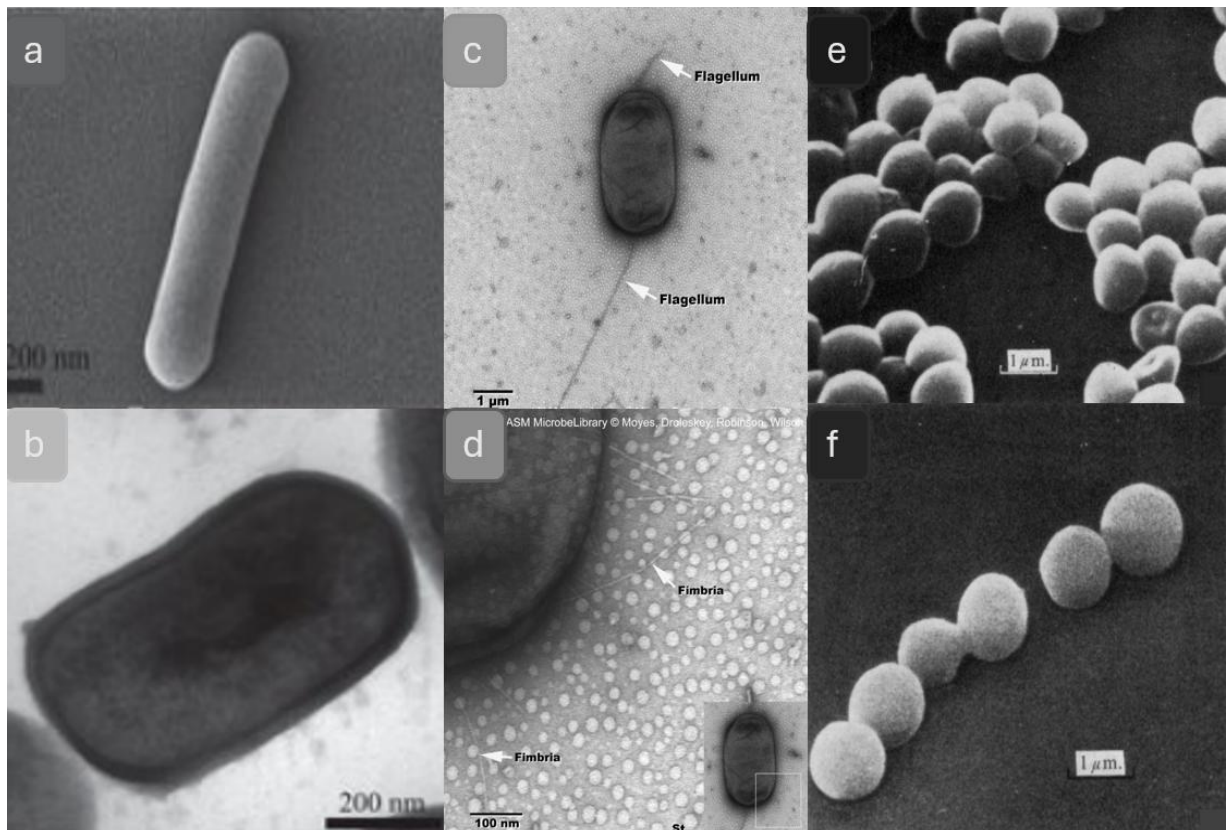
¹⁵ Células bacterianas em biofilmes estão imersas em uma matriz autoproduzida de material extracelular, composta por DNA extracelular, proteínas, polissacarídeos e outras moléculas inorgânicas, chamada matriz de componente extracelular.

¹⁶ Diferentes cepas ou espécies disputam nutrientes, espaço ou condições ambientais. Esse processo pode inibir o crescimento de microrganismos indesejáveis por meio da produção de substâncias antimicrobianas, como ácidos e bacteriocinas.

¹⁷ Diferentes espécies ou cepas se beneficiam mutuamente, promovendo crescimento ou sobrevivência. Isso pode envolver a troca de metabólitos, modificação do ambiente (como pH) ou formação conjunta de biofilmes.

ligada. A biossíntese dos flagelos é dependente de temperatura e ocorre preferencialmente entre 20 – 25 °C. Em temperaturas próximas a 37 °C, típicas de organismos hospedeiros, a maioria das cepas de *L. monocytogenes* não expressa flagelos e, conseqüentemente, perde a motilidade (Lemon *et al.*, 2007).

Figura 4 – Estruturas morfológicas de *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium* e *Staphylococcus aureus*.



Fonte: American Society for Microbiology, 2011; Greenwood e O'grady, 1972; Nampuak e Tongkhao, 2019.

Legenda: (a) Microscopia Eletrônica de Varredura de cepas de *Listeria monocytogenes*; (b) Microscopia Eletrônica de Transmissão com visão longitudinal de cepas de *L. monocytogenes*; (c) *Salomonella typhimurium* corada negativamente com 1% de acetato de uranila. Bactéria possuindo múltiplos flagelos; (d) Flagelo de *S. typhimurium*, corado com 1% de acetato de uranila, mostrando a natureza helicoidal da estrutura proteica de seus flagelos; (e) Células normais de *Staphylococcus aureus* da fase de crescimento logarítmico médio a tardio; (f) Divisão em *S. aureus* evidentemente ocorrendo por crescimento progressivo da parede.

A bactéria *L. monocytogenes* consegue sobreviver em condições de anaerobiose facultativa, podendo ser isolada diretamente dos alimentos ou de ambientes de produção alimentar, incluindo aço inoxidável, poliestireno ou vidro. Devido sua capacidade de sobrevivência em condições adversas (ambientes refrigerados, baixas temperaturas, alta pressão osmótica e pH ácido), está

amplamente disseminada no meio ambiente, incluindo águas, solos e até mesmo em efluentes (Silva *et al.*, 2024).

A espécie *L. monocytogenes* também é capaz de formar biofilmes em temperaturas que variam de 4 a 37°C, contribuindo para a sua persistência em superfícies e potencial contaminação de alimentos. Outro fator de virulência importante está na capacidade de adesão a superfícies abióticas por mecanismos independentes de flagelos e não dependentes da temperatura (Osek *et al.*, 2022).

A bactéria *L. monocytogenes* é responsável por casos clínicos de listeriose, uma doença de origem alimentar em humanos, que pode se manifestar de forma não invasiva ou invasiva. A forma não invasiva, também conhecida como gastroenterite febril, apresenta sintomas leves como febre, diarreia, dor de cabeça e mialgia. Já a listeriose invasiva é a forma mais severa da doença, sendo de maior risco para populações mais vulneráveis como gestantes, bebês, idosos e pessoas com comorbidades. Os sintomas da listeriose invasiva geralmente incluem febre, mialgia, septicemia, meningoencefalite e abortos espontâneos, já que a bactéria pode ser transmitida verticalmente pela placenta resultando em morte fetal, septicemia ou meningite neonatal (Jaramillo-Bedoya *et al.*, 2021).

Os surtos de listeriose são relatados em todo o mundo, sendo que na União Europeia durante o período de 2022 a 2024 foram identificados 20 casos de listeriose confirmados após o consumo de salmão. Os surtos ocorreram na Dinamarca (17), Itália (2) e Alemanha (1) e todos foram relacionados a mesma cepa, indicando contaminação persistente e falhas nos controles de higiene em pontos críticos da produção e distribuição de alimentos na cadeia alimentar europeia (European Centre for Disease Prevention and Control, 2024). Situação semelhante ocorreu nos Estados Unidos durante os anos de 2014 a 2023 onde foram confirmados 26 casos de listeriose em 11 estados após o consumo de queijos tipo fresco¹⁸ e cotija¹⁹. Foram registrados dois óbitos (Califórnia e Texas). Assim como na União Europeia, todos os casos apresentaram a mesma cepa em amostras clínicas, nos produtos e nas fábricas, evidenciando contaminação persistente e falhas nos controles sanitários (CDC, 2024). Já no Brasil, embora *L. monocytogenes* não figure entre os principais agentes

¹⁸ Queijo branco, macio e fresco (que não passa por maturação) feito com leite de vaca. É tradicional da culinária latino-americana, especialmente a mexicana. Possui sabor suave, levemente ácido e salgado.

¹⁹ Queijo mexicano feito com leite de vaca, de sabor salgado e textura firme. Pode ser fresco ou envelhecido, sendo este último mais seco e usado ralado (muito relacionado ao queijo parmesão).

etiológicos de DTHA (Brasil, 2024b), no ano de 2024 houve um recall queijos parmesão ralados que estavam potencialmente inseguros, provavelmente contaminados com *L. monocytogenes* (Brasil, 2024d). Vale ressaltar que embora a incidência da listeriose seja relativamente baixa, a taxa de mortalidade é elevada, afetando aproximadamente 20–25% dos pacientes (Osek *et al.*, 2022).

Outro patógeno de elevada importância em DTHA é a bactéria *Salmonella*, um bacilo Gram-negativo com tamanho de 0,7 a 1,5 µm de diâmetro por 2 a 5 µm de comprimento (Figura 4C e D). *Salmonella* uma bactéria patogênica anaeróbica facultativa pertencente à família Enterobacteriaceae e é responsável por casos clínicos de salmonelose, febre tifoide e febre paratifoide (Ajmera e Shabbir, 2023; Qamar *et al.* 2022).

As duas espécies principais causadoras de salmonelose são *Salmonella bongori* e a *Salmonella enterica* (Neyaz *et al.*, 2024). Existem seis tipos de subespécies de *S. enterica*: Subsp. *enterica* (I), Subsp. *salamae* (II), Subsp. *arizonae* (IIIa), Subsp. *diarizonae* (IIIb), Subsp. *houtenae* (IV) e Subsp. *indica* (VI). A Subsp. *enterica* é a mais relevante para animais de sangue quente com cerca de 2.500 sorotipos. Entretanto, menos de 100 sorovares são capazes de causar infecções em humanos, dentre eles a *Salmonella enteritidis*, *typhimurium*, *newport* e *javiana* (Ajmera e Shabbir, 2023; Qamar *et al.* 2022).

Os sorovares de *Salmonella enterica typhi* e *paratyphi* causam a febre tifoide e paratifoide (Ajmera e Shabbir, 2023; Qamar *et al.* 2022), são transmitidos exclusivamente entre humanos e podem causar doenças graves, pois tem a capacidade de invadir a corrente sanguínea e se espalhar pelo corpo infectando outros órgãos e secretando endotoxinas. Assim, a febre tifoide pode evoluir para casos clínicos graves com choque séptico e hipovolêmicos com risco de óbito. Entretanto a taxa de letalidade, que geralmente é de 10% a 30%, pode chegar a 1% a 4% com tratamento medicamentoso adequado (Neyaz *et al.*, 2024; Saha *et al.*, 2023).

No Brasil, entre os anos de 2007 e 2016, foram notificados 6.632 surtos de salmonelose, das quais foram registrados 118.104 doentes e 109 óbitos. Apesar da taxa de mortalidade ser de 0,09%, esses dados evidenciam a relevância crítica do monitoramento e da prevenção da presença de *Salmonella* em alimentos, destacando a necessidade de rigor nos controles de higiene e segurança alimentar em toda a cadeia produtiva (Savariz *et al.*, 2017).

A transmissão da *Salmonella* ocorre por via fecal-oral, a partir de alimentos frescos (frutas e vegetais) ou outros alimentos, como leite não pasteurizado, carne crua e ovos, além de água contaminada com fezes (Dong *et al.*, 2021). Mesmo com a limpeza prevista nos protocolos Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), algumas cepas de *S. enterica* podem sobreviver, aderir às superfícies e formar biofilmes em áreas de difícil higienização. O combo temperatura de 37 °C, pH 7,0 e 0,25% de glicose são condições que favorecem a formação de biofilme por *S. enterica*, criando um ambiente ideal de persistência do microrganismo (Vice *et al.*, 2025; Brasil, 2004).

No Brasil, a Instrução Normativa nº 161, de 1º de julho de 2022, publicada pela ANVISA, estabelece os padrões microbiológicos para alimentos. De acordo com esse documento, a presença de *Salmonella* spp. é terminantemente proibida em leite e queijos, independentemente da aplicação ou não de tratamento térmico durante o processo de fabricação. Portanto, a detecção de uma única unidade formadora de colônia (UFC) é suficiente para classificar o produto como impróprio para consumo (Brasil, 2022b).

Produtos alimentícios artesanais, especialmente queijos e carnes, têm apresentado maior incidência de *Salmonella* spp. em comparação aos industrializados. De forma que esse padrão indica fortemente o descumprimento das BPF aliada ao uso de leite cru, elevando significativamente o risco de contaminação dos queijos feitos de leite cru por patógenos entéricos (Amorim *et al.*, 2014; Munhoz *et al.*, 2021).

S. aureus é uma bactéria coco Gram-positiva, frequentemente organizada em cachos (Figura 4E e F) e pertencente à família Staphylococcaceae. *S. aureus* consegue sobreviver em condições de anaerobiose facultativa e pode se desenvolver tanto como um microrganismo comensal, quanto como um patógeno oportunista. *S. aureus* apresenta capacidade de colonizar a região nasal, boca, pele e superfícies mucosas, podendo estar presente em até 30% dos seres humanos saudáveis, além de poder colonizar a pele e úbere das vacas leiteiras saudáveis (Laux *et al.*, 2019; Margalho *et al.*, 2024; Touaitia *et al.*, 2025).

A colonização assintomática por *S. aureus* representa um fator de risco importante para o desenvolvimento de infecções invasivas pelo hospedeiro, onde a adaptabilidade da bactéria lhe permite aproveitar falhas nas barreiras de proteção do

hospedeiro ou no sistema imunológico e estabelecer infecções invasivas, podendo o hospedeiro desenvolver quadros clínicos que variam desde lesões superficiais da pele e tecido moles até casos graves e potencialmente fatais como endocardites, artrite séptica, osteomielite, pneumonia e bacteremia (Laux *et al.*, 2019; Margalho *et al.*, 2024; Touaitia *et al.*, 2025).

A patogenicidade de *S. aureus* está diretamente associada aos seus fatores de virulência, que incluem a produção de proteínas de superfície, secreção de toxinas e adaptações metabólicas que permitem ao microrganismo aderir aos tecidos do hospedeiro, evadir respostas imunes e causar danos celulares (Powers e Wardenburg, 2014). Além disso, *S. aureus* está frequentemente associado à formação de biofilmes em dispositivos médicos e em implantes protéticos, apresentando uma sobrevivência ambiental prolongada, onde através do biofilme há uma proteção da bactéria para a resposta imune do hospedeiro e ação de antimicrobianos (Weber *et al.*, 2023).

A RAM de *S. aureus* está descrita na literatura desde a década de 1940, com o reconhecimento de cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a metilicilina (MRSA) em 1962 (Kest e Kaushik, 2019). O surgimento de MRSA não apenas comprometeu a eficácia dos tratamentos antibióticos de primeira linha, como também influenciou no desenvolvimento de cepas *S. aureus* com suscetibilidade reduzida à vancomicina (VRSA) e a fármacos de último recurso. Esses fatores que evidenciam a plasticidade adaptativa da espécie *S. aureus* justificam o aumento da morbidade e mortalidade global (Touaitia *et al.*, 2025).

A grande questão é que cepas de *S. aureus* são comumente isoladas de amostras de leite sem pasteurização utilizadas na produção de queijos, principalmente os artesanais feitos de leite cru, representando uma fonte de introdução desses microrganismos na cadeia de produção de laticínios. E embora *S. aureus* não forme esporos, sua natureza oportunista favorece seu crescimento em uma ampla faixa de temperatura (7 a 48,5 °C) e de pH (4,2 a 9,3) (Lim *et al.*, 2023).

Além disso, *S. aureus* está frequentemente associado a mastite clínica e subclínica em vacas leiteiras, podendo também ser isolado dos equipamentos de processamento de laticínios, dos ambientes de produção e das mãos dos manipuladores dos alimentos. Apesar de outras espécies de *Staphylococcus* serem capazes de produzir enterotoxinas estafilocócicas (EES), *S. aureus* é a principal

espécie associada a intoxicação alimentar estafilocócica (Margalho *et al.*, 2024; Johler *et al.* 2018).

As principais toxinas produzidas por *S. aureus* são as hemolisinas, leucocidinas, toxinas esfoliativas, toxina da síndrome do choque tóxico-1 (TSST-1) e EEs. As cepas produtoras de EEs são as principais responsáveis pela intoxicação alimentar estafilocócica, decorrente da ingestão de alimentos contendo níveis suficientes dessas toxinas pré-formadas. A síntese dessas toxinas é desencadeada quando a população bacteriana atinge entre 1 a 10 milhões de UFC por grama de alimento, sendo que quantidades pequenas de 20 a 100 ng da toxina ingerida são capazes de provocar sintomas gastrointestinais em humanos (Hu *et al.*, 2018).

As EEs podem ser sintetizadas durante a produção e o armazenamento do alimento, onde a contaminação com *S. aureus* pode atingir a densidade celular necessária para a produção de enterotoxinas. Essas toxinas permanecem estáveis mesmo após a pasteurização do leite, uma vez que apresentam elevada resistência ao calor e mantêm sua atividade biológica em condições usuais de fabricação dos alimentos, causando intoxicação alimentar estafilocócica ligada ao consumo de queijos (Aguiar *et al.*, 2024; Lim *et al.*, 2023; Margalho *et al.*, 2024).

Na literatura são descritos mais de 20 enterotoxinas estafilocócicas classificadas de acordo com a sorotipo, sendo divididas em genes clássicos (*sea*, *seb*, *sec*, *sed* e *see*) e genes não clássicos (*seg*, *seh*, *sei*, *ser*). As propriedades estáveis das EEs, a alta virulência e à baixa dose necessária de ingestão para causar os sintomas, faz com que o consumo de alimentos contaminados com *S. aureus* enterotoxigênico cause surtos alimentares. Do ponto de vista genético, a maioria dos genes que codificam as EEs estão localizados em elementos móveis, como os plasmídeos, bacteriófagos ou ilhas de patogenicidade. Isso favorece a disseminação dessas toxinas entre diferentes cepas e potencializa a diversidade de perfis de *S. aureus* toxigênicos encontrados em alimentos contaminados (Margalho *et al.*, 2024).

As cepas de *S. aureus* enterotoxigênicas oriundas de pequenas produções artesanais de queijos também podem carregar genes de resistência antimicrobiana e virulência, incluindo *mecA/mecC* (que conferem resistência à meticilina) ou o gene *pvl*, que codifica a leucocidina de Panton-Valentine, uma toxina β -formadora de poros (Johler *et al.* 2018).

Casos de intoxicação estafilocócica associada ao consumo de queijos artesanais têm sido reportados em todo o mundo, reforçando a importância desse microrganismo como patógeno alimentar. Na Itália, Sicília, foram relatados quatro surtos alimentares durante o período de 2009 a 2016, relacionados ao consumo de queijo de cabra tipo *primosale*²⁰ contaminados com cepas de *S. aureus* produtoras de enterotoxina do tipo C. A carga microbiana das amostras chegou a aproximadamente $1,0 \times 10^9$ UFC por grama de alimento, evidenciando um grande risco relacionado a prática artesanal (Cardamone *et al.*, 2024). No Brasil, um caso clássico de surto documentado de intoxicação alimentar por *S. aureus* em queijo Minas, ocorreu em julho de 1987, na cidade de Ouro Preto (MG). O queijo estava com uma carga microbiana de $9,3 \times 10^8$ UFC por grama de alimento, com cepas produtoras das enterotoxinas A, B, D e E (Sabioni *et al.*, 1988).

Um estudo multicêntrico para identificação de *S. aureus* investigou queijos artesanais de cinco regiões brasileiras, incluindo variedades de Minas Artesanal. A carga microbiana de *S. aureus* das amostras variou de 3,4 a 6,4 log UFC por grama de alimentos ($2,5 \times 10^3$ a $2,5 \times 10^6$ UFC/g), sendo que 92,6% dos isolados de *S. aureus* tiveram positividade para genes de enterotoxinas clássicas. Ainda, do total de cepas de *S. aureus* estudadas, 16% resistiram à sanitização com hipoclorito a 0,02%, 87,6% demonstraram forte adesão à superfície de aço inoxidável e 80,5% se mostraram multirresistentes. Os autores concluíram que a presença de cepas de *S. aureus* enterotoxigênicas e resistentes a antimicrobianos em queijos representa um potencial risco à saúde pública. Esse resultado reforça a necessidade de um controle mais rigoroso das fontes de contaminação dos queijos, sendo indispensável a adoção de medidas higiênicas para garantir a segurança dos alimentos. Além disso, deve-se dedicar maior atenção ao bem-estar animal e às práticas de higiene em algumas fazendas leiteiras durante o processo de fabricação, a fim de melhorar a qualidade microbiológica dos queijos tradicionais (Margalho *et al.*, 2024).

E por fim, a STEC em queijos frescos representa um risco significativo de DTHA. A determinação do potencial de virulência de STEC é complexa, pois depende tanto das características da cepa quanto da suscetibilidade da população exposta. Por outro

²⁰ Queijo fresco tradicional da Sicília, produzido geralmente com leite de ovelha, de cabra ou misturas. Seu nome significa “primeiro sal” e refere-se à etapa inicial de salga em que a massa é submetida. É um queijo de maturação curta (1 a 15 dias), textura macia e úmida e sabor suave.

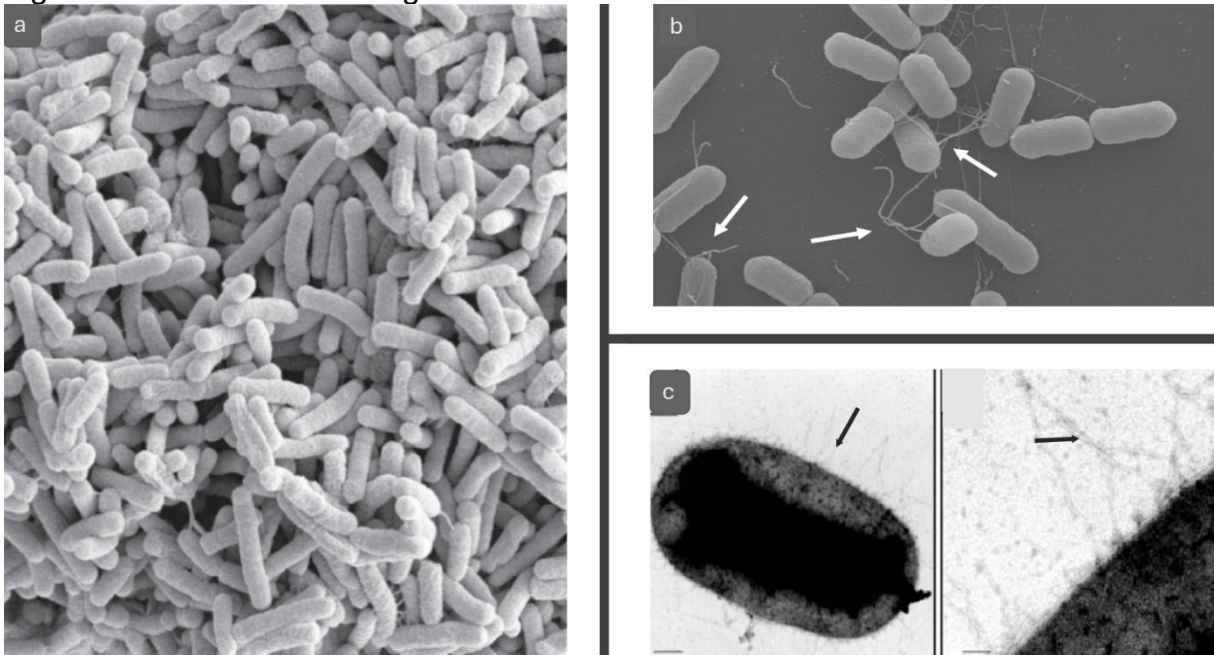
lado, as manifestações clínicas podem variar desde quadros clínicos leves até os mais graves, como evolução para a Síndrome Hemolítico-Urêmica (SHU), uma das principais causas de insuficiência renal em crianças (Basak *et al.*, 2024).

O processo de fabricação do queijo exerce forte influência na contaminação por STEC, bem como no crescimento e na sobrevivência desse microrganismo. Por isso, o controle da contaminação está diretamente relacionado à aplicação das BPF, que devem ser implementadas desde a produção do leite na fazenda e mantidas ao longo de todo o processo de fabricação do queijo. Uma vez presente no alimento, a capacidade da STEC de crescer ou sobreviver depende de fatores que podem ser monitorados e controlados, como o tempo e a temperatura de armazenamento, o pH e a atividade de água do produto. Nesse contexto, a adoção de sistemas de APPCC nas fazendas pode ser uma estratégia eficaz para a prevenção da contaminação (Perrin *et al.*, 2015). Considerando sua relevância e o risco associado ao consumo de queijos artesanais, *E. coli* será discutida com maior profundidade no tópico seguinte.

2.6 *Escherichia coli*

E. coli é uma bactéria que tem sido extensivamente estudada e se tornou um dos modelos padrões em biologia devido a sua facilidade de cultivo, crescimento rápido e simplicidade do sistema bacteriano (Ruiz e Silhavy, 2022). *E. coli* é um bacilo Gram-negativo, pertencente à família Enterobacteriaceae, possui metabolismo anaeróbico facultativo, consegue se desenvolver em temperaturas entre 18 e 44 °C, fermentando glicose e produzindo gás e mede cerca de 1,5 µm de comprimento por 0,5 µm de largura. Os processos de colonização e infecção por *E. coli* são facilitados por seu metabolismo de catalase-positiva (que favorece sua sobrevivência em ambientes oxidativos), pela movimentação por flagelos e pela fixação por *pilli* (Figura 5) (Muhamad Hendri *et al.*, 2024; Naidoo e Zishiri, 2025; Sarowska *et al.*, 2019; Swelum *et al.*, 2021; Wei *et al.*, 2024).

Figura 5 – Estrutura morfológica de *Escherichia coli*.



Fonte: Andreozzi e Uhlich, 2020; Luegering *et al.*, 2003; Muhamad Hendri *et al.*, 2024.

Legenda: (a) Micrografia de MEV-FE (Microscopia Eletrônica de Varredura por Emissão de Campo) de *Escherichia coli* ATCC 25922. Ampliações de 20.000x; (b) Micrografia de MEV-FE. As setas indicam os flagelos. (c) Visualização dos *pilli* da cepa de *E. coli* por MEV. As setas indicam os *pilli*.

E. coli é uma bactéria intestinal encontrada em animais de sangue quente, humanos, água, no ambiente e, em alguns casos, em alimentos contaminados. *E. coli* está entre as primeiras bactérias colonizadoras do intestino logo após o nascimento, sem causar danos ao hospedeiro, assim, sobrevive de forma comensal na microbiota intestinal do hospedeiro e pode participar da digestão e da síntese de vitaminas do complexo B e K (Han *et al.*, 2024; Pokharel *et al.*, 2023).

Em hospedeiros imunossuprimidos ou até mesmo indivíduos saudáveis onde as barreiras físicas, anatômicas e fisiológicas tenham sido comprometidas, a bactéria *E. coli* comensal pode ultrapassar o intestino e alcançar a corrente sanguínea causando infecções sistêmicas graves. Além disso, a elevada variabilidade genética da *E. coli*, incluindo mecanismos como a transferência horizontal de genes, faz com que algumas cepas de *E. coli* se diferenciem das formas comensais e passem a carregar fatores de virulência que aumentam sua capacidade patogênica (Han *et al.*, 2024; Pokharel *et al.*, 2023).

De acordo com os fatores de virulência as cepas patogênicas de *E. coli* podem ser classificadas em extraintestinais (ExPEC) e diarreiogênicas (DEC) (Braz *et al.*, 2020). As cepas ExPEC são patógenos oportunistas que podem invadir, sobreviver e

causar infecção em tecidos e fluidos extraintestinais, geralmente atingindo a corrente sanguínea e o trato urinário. Dentro desse grupo estão a *E. coli* uropatogênica (UPEC) e a *E. coli* associada à meningite e sepse (MNEC). A UPEC é a causa mais comum tanto em infecções urinárias complicadas quanto não complicadas. Isso porque os *pilli* do tipo 1, como os *pilli fimH* ligantes de manose, desempenham um papel central na adesão inicial às células epiteliais da uretra. Já a MNEC é a principal causa de meningite de início precoce, representando mais de 30% das infecções neonatais. Nela o antígeno K1 promove resistência a fatores sanguíneos do soro humano, sobrevivência intracelular e a travessia da barreira hematoencefálica (Duan *et al.*, 2020; Vanstokstraeten *et al.*, 2022).

As cepas DEC estão relacionadas a infecções intestinais e expressam adesinas invasivas e citotoxinas que atingem o epitélio gastrointestinal, levando a desregulação osmótica ou dano celular. As cepas DEC são classificadas principalmente em sete patótipos entéricos, incluindo EAEC (*E. coli* enteroagregativa), STEC ou EHEC (*E. coli* enterohemorrágica), EIEC (*E. coli* enteroinvasiva), EPEC (*E. coli* enteropatogênica), ETEC (*E. coli* enterotoxigênica), DAEC (*E. coli* aderente difusa) e AIEC (*E. coli* aderente-invasiva) (Khuntia *et al.*, 2025; Ohya *et al.*, 2025).

Esses patótipos de *E. coli* possuem fatores de virulência primários que são determinantes centrais de patogenicidade, ou seja, podem causar doença mesmo sem outros fatores associados. E os fatores de virulência secundários que por sua vez não causam doenças sozinhos, mas ajudam a bactéria a colonizar, persistir ou escapar da defesa do hospedeiro, aumentando a gravidade da infecção (Khuntia *et al.*, 2025; Ohya *et al.*, 2025).

Os fatores de virulência primários das cepas DEC são definidos por marcadores específicos, como por exemplo a presença das toxinas aggR e AAFs para EAEC, stx para STEC (stx e eae para EHEC), ipaH e invE para EIEC, eae para EPEC, enterotoxina termolábil (LT) e enterotoxina termoestável (ST) para ETEC e a família Afa/Dr de adesinas para DAEC. Já os fatores de virulência secundários das cepas DEC incluem os fatores de colonização (CFs), que são responsáveis pela adesão bacteriana aos tecidos do hospedeiro, os sistemas de secreção bacterianos, que secretam toxinas, enzimas e efetores no ambiente circundante ou diretamente em células hospedeiras e as cápsulas na superfície bacteriana, que protegem a bactéria da fagocitose pelas células do hospedeiro (Khuntia *et al.*, 2025; Ohya *et al.*, 2025).

A presença de *E. coli* em queijos artesanais frescos, além de indicar contaminação fecal, tem sido associada à ocorrência de surtos de origem alimentar decorrentes do consumo de queijos produzidos com leite cru (Brasil, 2022c; Costanzo *et al.*, 2020). Embora muitas cepas de *E. coli* sejam comensais, a presença potencial de cepas diarreiogênicas (DEC), especialmente das produtoras de toxina de Shiga (STEC), representa um risco adicional à segurança dos alimentos. É importante destacar que a contaminação por STEC está diretamente relacionada a surtos de doença diarreica hemolítica aguda, que podem evoluir para quadros clínicos graves, como a SHU, frequentemente associada à insuficiência renal, sobretudo em indivíduos mais vulneráveis (Heinsbroek *et al.*, 2025; Morandi *et al.*, 2024).

Os surtos alimentares causados por STEC estão associados ao consumo de alimentos de origem animal contaminados como carnes, leite e derivados, além de água. A contaminação pode vir de fezes bovinas, ração e até mesmo interação entre espécies animais distintas. Os fatores ambientais aliados ao manuseio e processamento inadequados por pessoal sem treinamento potencializam o risco de contaminação dos alimentos por STEC. De acordo com Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (do inglês *European Food Safety Authority*) no gado existe um reservatório natural e assintomático de STEC, fator que representa um veículo para infecções humanas diretas ou por meio de produtos alimentícios contaminados (Cortimiglia *et al.*, 2021; EFSA *et al.*, 2020; Ribeiro *et al.*, 2024).

A dose infecciosa de STEC suficiente para causar sintomas é baixa, com uma média de 10 a 100 UFC viáveis, sendo comum que a transmissão ocorra dentro de domicílios e ambientes institucionais, estando associada a laticínios não pasteurizados, carnes malcozidas, saladas e alimentos prontos para consumo em geral (King *et al.*, 2025). Em países como o Brasil, Canadá e Estados Unidos, *E. coli* está entre as principais bactérias associada a diarreia inespecífica (Chacón-Flores *et al.*, 2023).

Os tratamentos para as doenças causadas por *E. coli* variam de acordo com a origem da cepa e da doença. No caso de DEC leves, o tratamento é basicamente para manejar os sintomas, sendo recomendado como primeira linha de cuidado a reidratação oral. Inclusive a reidratação oral é recomendada em todos os casos de diarreias, desde que o paciente tolere a ingestão. Caso não seja possível a

administração oral, é indicado a hidratação intravenosa. Em geral os antibióticos não são utilizados como tratamento de primeira linha pra DEC (Mueller e Tainter, 2025).

Em caso de DEC graves, na qual os pacientes relatam mais de seis evacuações por dia, a presença de febre, desidratação profunda que seja necessária hospitalização, episódios de diarreia que duram mais de sete dias ou ainda diarreia sanguinolenta, os antibióticos podem ser utilizados. Nesses casos, a Sociedade de Doenças Infecciosas da América (do inglês *Infectious Diseases Society of America* - IDSA) e a Sociedade Internacional de Medicina do Viajante (do inglês *International Society of Travel Medicine* - ISTM) recomendam o uso de rifaximina, azitromicina e ciprofloxacina (Mueller e Tainter, 2025). No Brasil, a Sociedade Brasileira de Infectologia, juntamente ao Ministério da Saúde por meio do documento oficial de “Manejo do Paciente com Diarreia” orientam reidratação como base do tratamento, podendo utilizar azitromicina, ceftriaxona e ciprofloxacina em casos selecionados (Brasil, 2023a).

Por outro lado, as infecções causadas por cepas ExPEC são comumente tratadas com antibióticos, e nesses casos são consideradas a localização da infecção e o resultado dos testes de suscetibilidade antibacteriana. Contudo, o uso excessivo de antibióticos tem favorecido o aumento da RAM. Essa RAM compromete o tratamento das cepas de ExPEC, tornando as infecções frequentemente um desafio de saúde pública e um fardo econômico significativo (Duan *et al.*, 2020). Além disso, considera-se que já exista uma “pandemia silenciosa” de bactérias multirresistentes a antibióticos, dentre elas cepas de *E. coli* patogênicas, exigindo ações imediatas e eficazes para minimizar os problemas futuros (Ahmed *et al.*, 2024; Pokharel *et al.*, 2023).

Assim, compreender a emergência, a dinâmica e os riscos associados a presença de patógenos portadores de RAM na cadeia alimentar é fundamental para o desenvolvimento de estratégias eficazes que reduzam a disseminação dessas cepas resistentes por meio do consumo de alimentos contaminados (Aguiar *et al.*, 2024).

2.7 RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA (RAM)

A RAM é definida como a capacidade que um microrganismo, seja ele bactéria, vírus, parasita ou fungo, tem de resistir e não ser eliminado por um medicamento antimicrobiano. Como consequência as infecções ficam mais difíceis de serem tratadas, em especial as bacterianas, aumentando o risco de transmissão, redução da capacidade de prevenção, tratamento das infecções e maior evolução para casos graves e óbito (Ho *et al.*, 2025; Lahariya *et al.*, 2024). O desenvolvimento de RAM é uma preocupação mundial, urgente e crescente que já é consolidada como uma grave ameaça à saúde pública do século XXI (Ahmed *et al.*, 2024).

Os antibióticos revolucionaram a medicina humana, salvando milhões de pessoas e aumentaram a expectativa de vida humana, porém o uso irracional desses medicamentos tem aumentado a RAM de muitos patógenos (Patangia *et al.*, 2022). Apenas no ano de 2019 foram registradas mundialmente 4,95 milhões de mortes associadas a infecções causadas por microrganismos com RAM. Caso nenhuma atitude seja tomada, a estimativa é que as mortes por infecções causadas por microrganismos com RAM superem a maioria das outras causas de mortes atuais no mundo (Ferdinand *et al.*, 2024).

No Brasil e no mundo a utilização de antimicrobianos desempenha um papel importante na pecuária. Embora o objetivo principal da utilização de antimicrobianos na pecuária seja tratar as infecções dos animais, os antibióticos ainda são utilizados em alguns países como método profilático. Nesses casos, rebanhos inteiros podem ser medicados (inclusive animais sem sinais clínicos de enfermidade) com o intuito de evitar surtos e, em alguns países, os antibióticos são usados para promover o crescimento por meio de doses subterapêuticas²¹ (Liu *et al.*, 2020; Musuka *et al.*, 2025; Singh *et al.*, 2024). Assim há uma preocupação crescente de que essa prática favoreça não apenas o desenvolvimento de microrganismos resistentes, mas também a transferência dessa RAM para patógenos capazes de infectar seres humanos. O uso contínuo e inadequado de antimicrobianos exerce intensa pressão seletiva sobre as populações bacterianas, o que contribui para o surgimento e a disseminação da RAM em diferentes ambientes (Niveda *et al.*, 2024; Wesguerber *et al.*, 2024).

²¹ Quantidade insuficiente do medicamento necessária para eliminar o agente infeccioso, ou tratar uma doença, de forma eficaz.

Como forma de prevenir o desenvolvimento de RAM, desde 1998 o Brasil proíbe o uso de antibióticos com a finalidade de atuar como aditivos de crescimento e/ou melhoradores de desempenho animal. As substâncias antimicrobianas com uso proibido são: avoparcina, anfenicóis, tetraciclinas, β – lactâmicos (benzilpenicilâmicos e cefalosporinas), quinolonas, sulfonamidas sistêmicas, espiramicina, eritromicina, sulfato de colistina, tilosina, lincomicina e tiamulina, deixando claro o uso exclusivo apenas para tratamento de doenças veterinárias (Brasil, 2023b).

As práticas de criação animal participam fortemente da distribuição de genes de RAM e isso se dá principalmente devido à alta demanda por proteína animal como uma tendência alimentar, onde o uso de antibióticos possibilitou a produção de proteína em larga escala. A China é o país que mais utiliza antimicrobiano na criação dos animais produtores de alimentos, seguida pelo Brasil, Índia, EUA e Austrália, sendo que esses países juntos representam 58% do consumo total de antimicrobianos utilizados na agropecuária mundial (Ho *et al.*, 2025; Mulchandani *et al.*, 2023; Van Boeckel *et al.*, 2019).

Projeções mais recentes sobre a tendência de consumo global de antibióticos na criação animal, caso não haja nenhuma intervenção regulatória até o ano de 2040, apontam que sob um cenário *business-as-usual*²², o uso anual pode chegar a 143.481 toneladas (Acosta *et al.*, 2025). Como forma de evitar que esse cenário aconteça, os governantes mundiais, dentre eles o Brasil, participaram da 79ª Assembleia Geral das Nações Unidas apoiando e comprometendo-se a atuar na redução de 30 a 50% da quantidade global de uso de antimicrobianos no sistema agroalimentar até 2030, conforme estabelecido pelo Manifesto de Mascate²³ (Antibiotic Resistance Coalition, 2022; Brasil, 2024e; United Nations, 2024; United Nations General Assembly, 2024). É importante destacar que instituições multilaterais fazem parte do desenvolvimento do plano de combate à RAM, incluindo a OMS, Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (ONUAA), Organização Mundial da Saúde Animal (OMSA), Organização das Nações Unidas (ONU), Organização Mundial do Comércio (OMC) e

²² Cenário de projeção que pressupõe a continuidade das práticas atuais, sem implementação de novas políticas ou mudanças regulatórias.

²³ O Manifesto de Mascate foi firmado em 2022 durante a 3ª Conferência Ministerial sobre Resistência Antimicrobiana. O evento foi realizado em Mascate - Omã, e reuniu representantes de mais de 40 países. O objetivo do manifesto é reforçar o compromisso global para redução do uso de antimicrobianos em humanos, animais e meio ambiente até o ano de 2030.

posteriormente, o Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (PNUMA) (Silva *et al.*, 2020).

A atual demanda por antibióticos não é acompanhada pelo surgimento de novas classes antimicrobianas. Após o “período de ouro” da descoberta de antibióticos, que aconteceu na década de 1950, e a síntese de derivados mais potentes na década de 1970, os programas de desenvolvimento de antibióticos tornaram-se cada vez mais arriscados para as empresas farmacêuticas devido às perspectivas de baixo lucro (Cardona *et al.*, 2025).

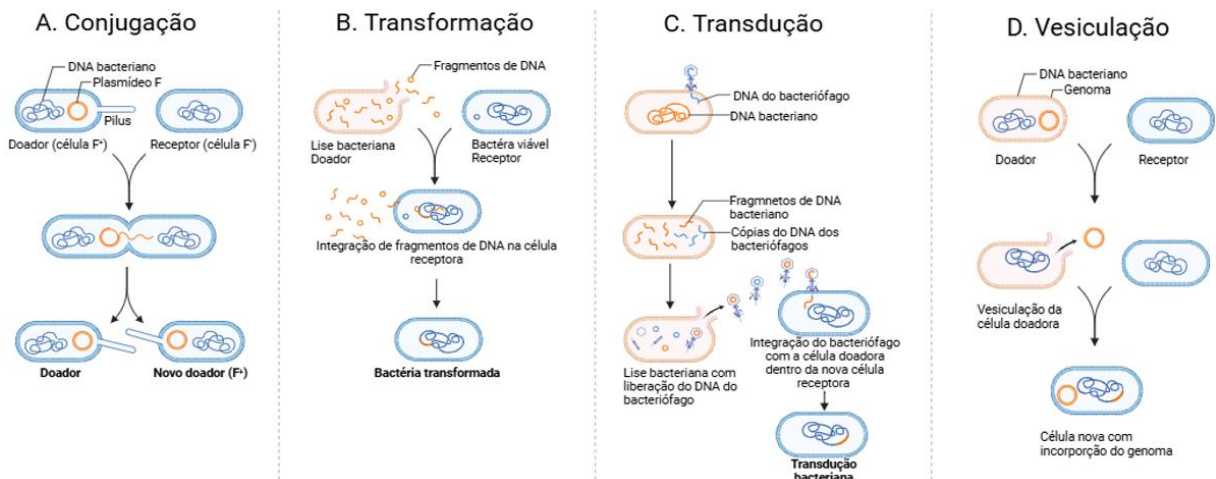
Como consequência, nas últimas décadas observou-se um declínio contínuo nas aprovações de novos antibióticos, com apenas 13 fármacos registrados entre 2017 e 2023 (Cardona *et al.*, 2025). O antibiótico mais recente, lançado em 2025, é um peptídeo denominado lariocidina, juntamente com seu derivado cíclico, lariocidina B, ambos produzidos por *Paenibacillus* spp. M2. O mecanismo de ação da lariocidina baseia-se na inibição do crescimento bacteriano por meio da ligação ao ribossomo e da consequente interferência na síntese proteica (Jangra *et al.*, 2025; Patangia *et al.*, 2022).

O uso crescente de antibióticos está associado ao surgimento e à disseminação generalizada de bactérias resistentes a antibióticos (BRA) e de genes de RAM (GRA). Isso ocorre em grande parte porque os plasmídeos, elementos genéticos móveis presentes em muitos microrganismos, desempenham um papel fundamental na evolução bacteriana. Os plasmídeos permitem que os patógenos adquiram e disseminem genes de resistência. Assim, a capacidade de um plasmídeo se manter e ser transmitido ao longo do tempo depende diretamente dos mecanismos de transferência vertical (entre gerações de uma mesma linhagem) e horizontal (entre diferentes espécies ou linhagens bacterianas) (Bethke *et al.*, 2023; Chekole *et al.*, 2025).

A transferência vertical ocorre quando há a passagem de um plasmídeo da célula-mãe para as células-filhas durante a divisão celular. Nessa transferência podem surgir mutações espontâneas no genoma bacteriano (Bethke *et al.*, 2023; Bustamante *et al.*, 2025; Liu *et al.*, 2024; Tao *et al.*, 2022). As mutações no DNA, como nos casos de substituições e deleções, geralmente são desencadeadas por fatores de estresse como falta de nutrientes, radiação ultravioleta ou exposição a substâncias químicas (Galgano *et al.*, 2025; Wang *et al.*, 2022).

A transferência horizontal é comumente considerada como o principal mecanismo de disseminação de BRA e ocorre quando há a aquisição de GRA de outras bactérias. Os genes de resistência estão localizados dentro dos elementos genéticos móveis entre bactérias, como os integrons, transposons e plasmídeos conjugativos, e são habitualmente transmitidos entre espécies semelhantes ou não, ampliando a dispersão da RAM. Esse fenômeno ocorre por mecanismo composto por conjugação mediada por plasmídeos, transformação mediada por DNA extracelular, transdução mediada por bacteriófagos e pela vesiculação (Figura 6) que é o mecanismo de transmissão de resistência mais recente descrito na literatura (Karkman *et al.*, 2018; Venter *et al.*, 2017).

Figura 6 – Mecanismos de transmissão horizontal de resistência bacteriana.



Fonte: elaboração própria.

Legenda: (A) processo em que a bactéria doadora entra em contato direto com a bactéria receptora e formando uma ponte estável, geralmente por meio de pili; (B) processo em que as bactérias captam e integram diretamente fragmentos de DNA que estão livre do ambiente extracelular; (C) processo em que os bacteriófagos, de forma equivocada, empacotam uma parte dos genes da bactéria hospedeira em suas cápsulas e transferem esses genes para outra célula; (D) processo em que há a liberação de vesículas com fragmentos de DNA que se fundem a nova célula receptora (Liu *et al.*, 2024).

A transferência horizontal transforma o resistoma em um ambiente dinâmico e acessível com estratégias de defesa contra ambientes hostis. Assim, os genes que eram restritos entre espécies, agora podem ser transferidos coletivamente (Parras-Moltó *et al.*, 2025). Nesse contexto, entre os microrganismos que representam a maior ameaça na disseminação de GRA destacam-se as enterobactérias, com ênfase especial para espécie *E. coli*. As infecções causadas por *E. coli* estão se tornando cada vez mais intratáveis ou exigindo o uso de antibióticos de último recurso (Cabrera *et al.*, 2025).

2.7.1 Resistência antimicrobiana em *Escherichia coli*: variabilidade, transferência genética e relevância epidemiológica

A bactéria *E. coli* é reconhecida pela organização mundial tripartite²⁴ como um patógeno indicador global com uso indicado para monitorar a RAM (WHO, 2021). *E. coli* é um microrganismo versátil, facilmente encontrado na natureza e suscetível a alterações genéticas naturais ou adquiridas. Essa variabilidade permite a coexistência de cepas comensais e patogênicas dentro da mesma espécie bacteriana, indicando sua variabilidade genética (Braz *et al.*, 2020).

E. coli atua como um importante reservatório para a transferência horizontal de GRA, podendo disseminar-se de animais de produção para os alimentos e, conseqüentemente, para os seres humanos por meio da cadeia alimentar (Hofer, 2022). A detecção dessa bactéria é fundamental para monitorar a prevalência, a diversidade e a mobilidade dos genes de resistência, sendo considerada um excelente indicador para rastrear a circulação da RAM entre diferentes hospedeiros (Babines-Orozco *et al.*, 2024; Muloi *et al.*, 2022).

As classes de antibióticos β -lactâmicos, polimixinas e aminoglicosídeos têm sido utilizadas clinicamente para o tratamento de infecções por *E. coli* devido ao seu mecanismo de ação específico, atuando respectivamente na parede celular, na membrana plasmática e na síntese proteica (Muhamad Hendri *et al.*, 2024). Porém, o uso excessivo e inadequado de antibióticos em cepas de *E. coli* tem ampliado os perfis de RAM para diversos antibióticos (Xu *et al.*, 2022).

Em 2022, o Sistema Global de Vigilância de Resistência e Uso de Antimicrobianos (*Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System – GLASS*) publicou um relatório com dados atualizados sobre a RAM. Os resultados indicaram que 42% das cepas de *E. coli* apresentaram resistência às cefalosporinas de terceira geração. Além disso, em casos de infecções do trato urinário causadas por *E. coli*, estima-se que uma em cada cinco infecções apresente baixa suscetibilidade à ampicilina, ao co-trimoxazol e às fluoroquinolonas. Esses dados evidenciam que *E. coli* representa um dos principais desafios globais tanto em infecções comunitárias

²⁴ Organização Mundial da Saúde (OMS), Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (ONUAA), Organização Mundial da Saúde Animal (OMSA), Organização das Nações Unidas (ONU)

quanto hospitalares, reforçando a crescente dificuldade em tratar infecções comuns de maneira eficaz (WHO, 2022).

É importante destacar que muitos GRA não surgiram por causa da ação humana recente, isto é, eles já existiam na natureza muito antes do uso de antibióticos na clínica. O que aconteceu foi que as atividades humanas favoreceram a seleção e a transferência desses genes entre diferentes bactérias, originadas tanto do ambiente quanto de células hospedeiras, favorecendo à ampla disseminação da RAM (Perry *et al.*, 2016).

Geneticamente, *E. coli* possui um DNA circular superenovelado com aproximadamente 1,6 mm de comprimento e 4,64 megapares de bases, confinado em um esferocilindro de 2 a 4 µm de comprimento (Bera; Mondal, 2024). Essa estrutura apresenta uma compactação longitudinal cerca de 1.100 vezes ao longo do eixo cromossômico, permitindo que todo o material genético seja adequadamente organizado dentro da célula (Mäkelä; Sherratt, 2020).

Além do cromossomo, *E. coli* também contém plasmídeos, que são moléculas de DNA circular de dupla fita livres no citoplasma. Quando comparados ao tamanho do cromossomo, os plasmídeos representam cerca de 5% do total de DNA celular. Algumas células podem abrigar mais de 300 plasmídeos de origem natural, evidenciando sua relevância na variabilidade genética e na adaptação bacteriana (Madigan *et al.*, 2016).

Os plasmídeos podem ser classificados de acordo com sua mobilidade em conjugativos, mobilizáveis e não mobilizáveis, sendo que o que os diferencia é a capacidade de se movimentarem e serem transmitidos entre bactérias. Os plasmídeos conjugativos conseguem se transferir sozinhos de uma bactéria para outra por conjugação, pois apresentam todos os elementos necessários, como a origem de transferência (*oriT*), a relaxase com relaxossomo (quem reconhece a *oriT*), o *Genes tra* (forma o *pilli*/conexão entre as células), o T4SS (canal de transporte/acasalamento/conjugação) e o T4CP (proteína de acoplamento). Os plasmídeos mobilizáveis não conseguem ser transferidos sozinhos, já que possuem apenas a região *oriT*, o gene relaxase e uma ou mais proteínas que ajudam na clivagem. Os plasmídeos não mobilizáveis não conseguem se transferir de forma alguma por conjugação, pois não apresentam o maquinário necessário e por isso são

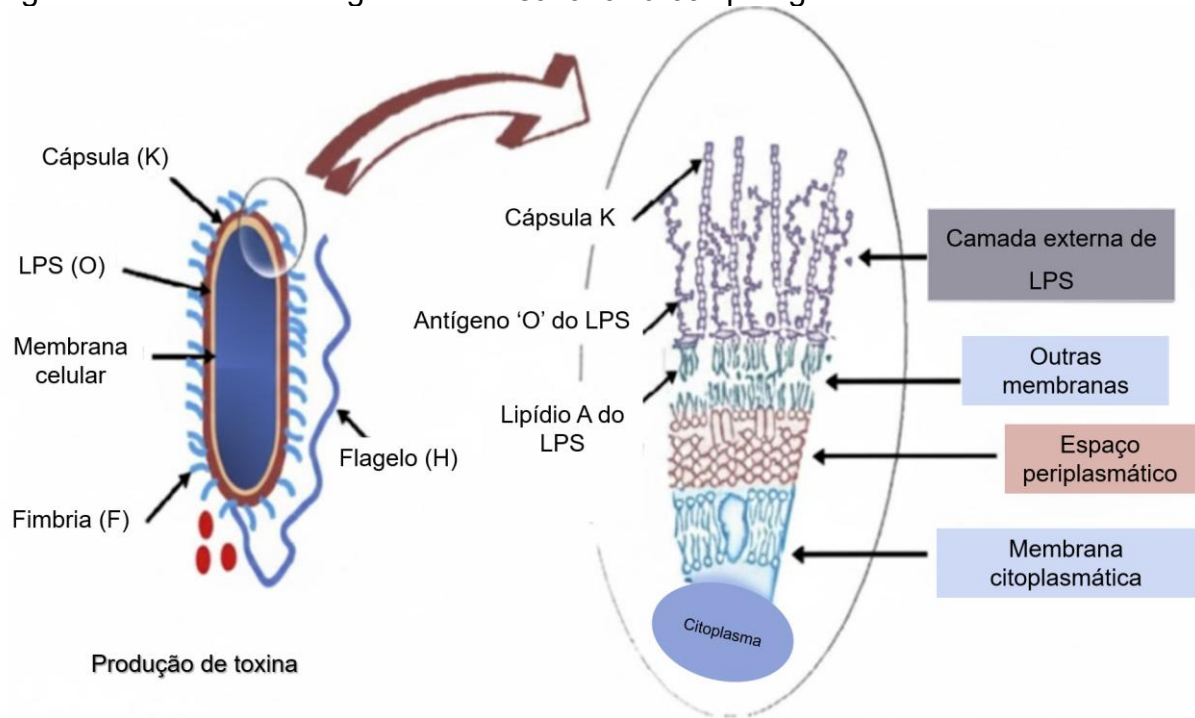
exclusivamente transferidos por transferência vertical (Shintani *et al.*, 2015; Smillie *et al.*, 2010).

Os plasmídeos conjugativos são, portanto, os principais responsáveis pela disseminação dos reservatórios de informações genéticas. Isso significa que os plasmídeos apresentam sequências genéticas chamadas de fator de fertilidade F (do inglês *Fertility factor*), as quais são responsáveis por facilitar a replicação com transferência de genes para outras bactérias. Em cepas de *E. coli* comensal, os plasmídeos F são os mais comuns e foram os primeiros a serem associados a resistência transmissível, sendo ainda considerados os elementos genéticos móveis que mais abrigam genes de resistência. A maioria dos plasmídeos conjugativos pode carregar um ou mais GRA, os quais são transferidos simultaneamente quando esses plasmídeos se replicam e se espalham. Assim, o transporte de GRA em elementos transponíveis e plasmídeos móveis em cepas comensais de *E. coli* torna o resistoma altamente dinâmico (Ajayi *et al.*, 2024; Stephens *et al.*, 2020).

Em adição, as bactérias Gram-negativas possuem uma estrutura celular composta por membrana interna, uma camada fina de peptidoglicano e uma membrana externa associada a lipopolissacarídeos (LPS). Essa conformação de envelope confere as bactérias Gram-negativas uma barreira de proteção contra os fármacos, sendo reconhecida como um dos principais determinantes de resistência intrínseca a antibióticos (Hummels *et al.*, 2023; Liu *et al.*, 2025).

As cepas de *E. coli* são classificadas em sorogrupos ou sorotipos, com base na presença de diferentes antígenos de superfície: o antígeno 'O' (de parede celular), o antígeno 'H' (flagelar) e o antígeno 'K' (capsular). A camada de lipopolissacarídeos (LPS) contém o açúcar O-polissacarídeo, também conhecido como antígeno 'O' e já foram descritos 181 sorogrupos 'O' na literatura. Os sorogrupos 'O' estão frequentemente associados a sorovares patogênicos específicos de *E. coli*, como o sorogrupo O157, típico da EHEC (Elder *et al.*, 2021; Nasrollahian *et al.*, 2024). Os antígenos 'H' são determinados pela flagelina, principal subunidade proteica do flagelo e reconhecidos por suas respostas sorológicas características. Atualmente, são conhecidos 60 tipos de antígenos 'H', além de 80 tipos de antígenos 'K' (capsulares) e 17 tipos de antígenos 'F' (relacionados às fímbrias ou pili) (Swelum *et al.*, 2021) (Figura 7).

Figura 7 – Estrutura antigênica de *Escherichia coli* patogênica.



Fonte: traduzido de Swelum *et al.*, 2021.

Legenda: K: cápsula; F: fímbrias; H: flagelos; LPS: lipopolissacarídeos. O: antígeno do LPS.

Diante desse panorama, a compreensão da RAM em *E. coli* não pode se limitar aos fenótipos observados, mas deve avançar para a identificação e caracterização dos determinantes genéticos envolvidos. Até porque o mecanismo de desenvolvimento de resistência mais prevalente continua sendo a aquisição de genes por meio da transferência horizontal, a qual é facilitada por elementos genéticos móveis, como plasmídeos, integrons, bacteriófagos e transposons (Nasrollahian *et al.*, 2024).

Portanto, a presença de plasmídeos conjugativos, elementos transponíveis e estruturas intrínsecas do envelope celular favorecem a aquisição, manutenção e disseminação de genes de resistência entre cepas de *E. coli* comensais e patogênicas, em diferentes hospedeiros e ambientes. Assim, é essencial examinar os principais genes associados à RAM em *E. coli*, seus mecanismos de ação e sua relevância epidemiológica (Mangroliya *et al.*, 2025).

2.7.1.1 Resistência antimicrobiana aos β -lactâmicos

Os antibióticos β -lactâmicos fazem parte de uma das classes medicamentosas mais comumente prescritas, respondendo por quase 60% do uso global de antibióticos, devido ao seu amplo espectro de ação²⁵ e são geralmente utilizados no tratamento de infecções bacterianas como otite, pneumonia, sinusite, infecções de pele e tecidos moles (Pandey; Cascella, 2025; Zhang *et al.*, 2024).

No Brasil, os medicamentos β -lactâmicos estão presentes na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (Rename), demonstrando sua relevância clínica e uso prioritário no Sistema Único de Saúde. A Rename classifica o uso de antibióticos baseado no sistema AWaRe, o qual foi criado pela OMS, como forma de orientar o uso responsável dos antibióticos. Esse sistema é dividido em drogas de acesso (Acess) que são medicamentos de primeira escolha e com baixo potencial de induzir resistência, alerta (Wath) que são medicamentos com alto risco de induzir resistência, não são de primeira escolha e devem ser usados com cautela e reserva (Reserv) que são aqueles que devem ser usados apenas em situações específicas como em caso de multirresistência ou justificativa clínica (Brasil, 2024f).

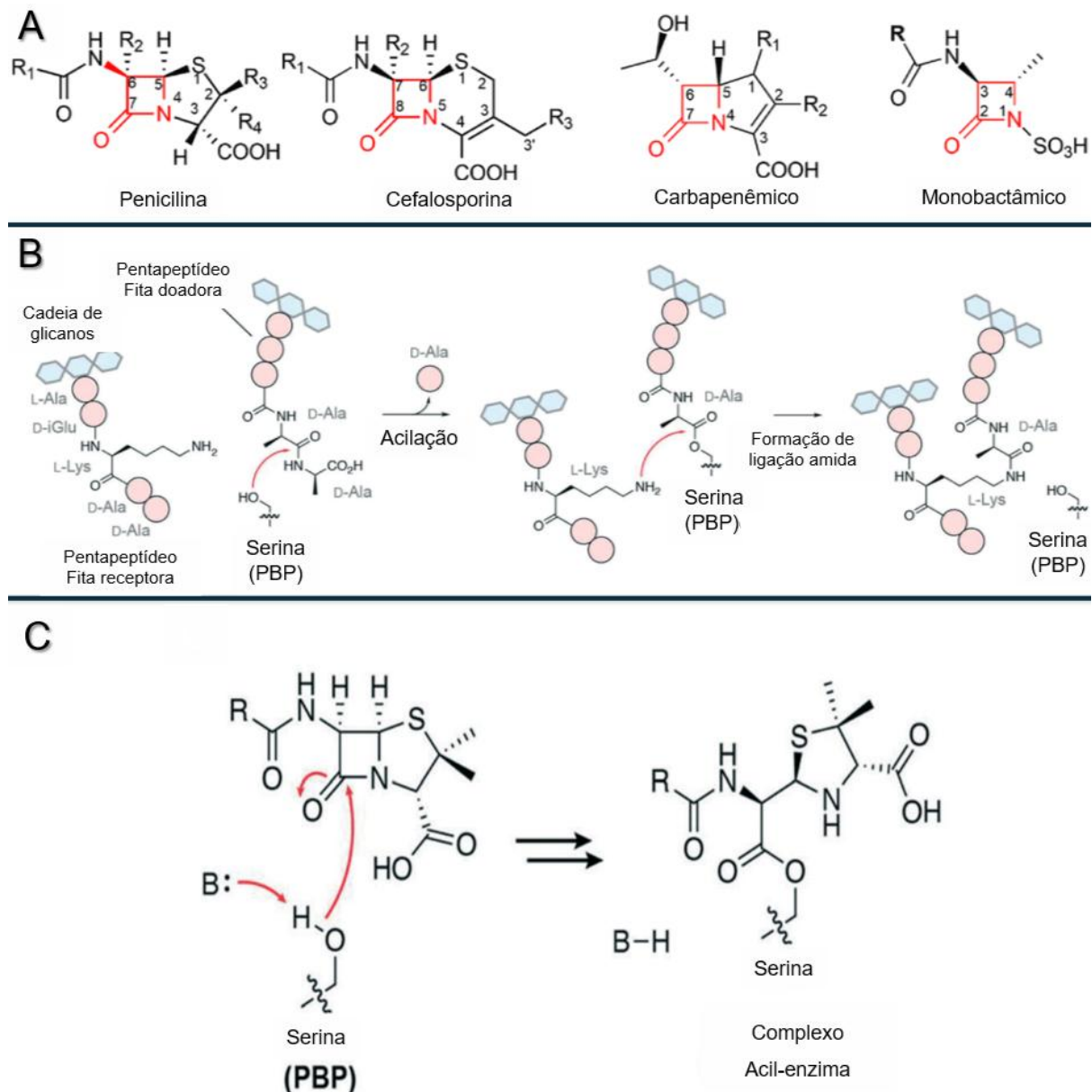
Os antibióticos β -lactâmicos apresentam um anel de quatro membros (3 carbonos e 1 nitrogênio) em sua estrutura química. O grupo dos antibióticos β -lactâmicos é classificado em penicilinas, cefalosporinas, carbapenêmicos e monobactâmicos. Nas penicilinas, cefalosporinas e carbapenêmicos, o anel β -lactâmico está fundido a outro anel. Nos monobactâmicos, o anel β -lactâmico é monocíclico (Figura 8A) (De Rosa *et al.*, 2021; Ye *et al.*, 2024; Zhang *et al.*, 2024).

Os antibióticos β -lactâmicos atuam inibindo as enzimas transpeptidases (ou PBP), responsáveis pela ligação cruzada do peptidoglicano da parede celular bacteriana. Normalmente, essas enzimas catalisam a formação de ligações entre cadeias peptídicas do peptidoglicano, um processo que envolve a liberação de D-alanina e a regeneração do sítio ativo da enzima (Figura 8B). Os β -lactâmicos mimetizam o substrato natural da transpeptidase (o dipeptídeo D-Ala-D-Ala) e, ao se ligarem covalentemente ao seu sítio ativo, formam um complexo acil-enzima estável, bloqueando permanentemente a atividade da enzima (Figura 8C). Essa inibição

²⁵ Antibiótico capaz de atuar contra microrganismos Gram-positivos e Gram-negativos. Seu uso é comum em infecções polimicrobianas ou quando o agente etiológico ainda não foi identificado.

impede a formação das ligações cruzadas do peptidoglicano, enfraquecendo a parede celular e levando à morte bacteriana (Bush & Bradford, 2016; Mora-Ochomogo & Lohans, 2021; Halawa *et al.*, 2024).

Figura 8 – Mecanismo de ação dos antibióticos β -lactâmicos inibindo a síntese da parede celular bacteriana.



Fonte: Traduzido de De Rosa *et al.*, 2021; Mora-Ochomogo; Lohans, 2021.

Legenda: (A) Estruturas centrais de diferentes classes de antibióticos β -lactâmicos. As penicilinas, cefalosporinas, carbapenêmicos e monobactâmicos são definidas pela fusão do seu núcleo β -lactâmico a outros anéis: a tiazolidina (em penicilinas), a di-hidrotiazina (em cefalosporinas), a pirrolina (em carbapenêmicos). Nos monobactâmicos, o anel β -lactâmico permanece isolado (monocíclico); (B) Mecanismo da Transpeptidação pela PBP (Síntese da Parede Celular). Papel das transpeptidases (PBP) na formação de ligações cruzadas do peptidoglicano. A serina nucleofílica da PBP ataca um pentapeptídeo na fita doadora, formando um complexo peptídeo-enzima e libertando D-alanina. A partir da fita aceitadora do peptidoglicano, uma cadeia lateral nucleofílica (L-lisina) reage com o complexo

peptídeo-enzima, formando uma ligação cruzada e libertando a enzima; (C) Mecanismos de acilação da serina nucleofílica da transpeptidase com um antibiótico penicilina, resultando na formação de um complexo acil-enzima.

A Penicilina G (benzilpenicilina) foi o primeiro fármaco β -lactâmico a ser usado clinicamente com indicação para tratar infecções estreptocócicas. Para ampliar o espectro de ação frente a patógenos Gram-negativos, foram desenvolvidas penicilinas de amplo espectro, como a ampicilina e a amoxicilina, introduzidas na década de 1970 e amplamente empregadas tanto na medicina humana quanto na veterinária. Inicialmente, essas drogas foram utilizadas no tratamento de infecções provocadas por bactérias da família Enterobacteriaceae (Bush; Bradford, 2016; Pawłowska *et al.*, 2024).

A produção de β -lactamases por diversas espécies de bactérias comprometeu a eficácia dos β -lactâmicos quando utilizados isoladamente em diversos tratamentos. Como estratégia para contornar essa resistência, passou-se a empregar a associação de antibióticos β -lactâmicos com inibidores de β -lactamase, capazes de proteger o antibiótico da degradação enzimática (Zhang *et al.*, 2024). No Brasil, tanto a amoxicilina isolada quanto a sua combinação com ácido clavulânico integram a Rename, ambas classificadas na categoria de acesso (Brasil, 2024f).

As cefalosporinas são antibióticos β -lactâmicos amplamente utilizados devido ao seu amplo espectro de ação. A escolha dessa classe terapêutica costuma basear-se em três aspectos principais: sua eficácia contra uma ampla variedade de microrganismos, a menor probabilidade de induzir resistência bacteriana em comparação aos carbapenêmicos em infecções não críticas e a sua utilização segura em pacientes com histórico de alergias não graves à penicilina (Hardie Boys; Pletzer, 2025).

A primeira cefalosporina desenvolvida, a cefazolina, foi introduzida na clínica em 1974. Atualmente, são reconhecidas cinco gerações de cefalosporinas, cuja principal diferença está no espectro de ação frente às espécies-alvo. As cefalosporinas de primeira geração, que incluem cefazolina, cefalotina, cefapirina, cefradina, cefadroxil e cefalexina, apresentam atividade predominante contra bactérias Gram-positivas, embora *E. coli* se mostre suscetível a esses fármacos, que tem menor ação frente a microrganismos Gram-negativos (Bui *et al.*, 2025; Fong, 2023; Hardie Boys; Pletzer, 2025).

As cefalosporinas de segunda geração são divididas em dois subgrupos, sendo o primeiro composto por cefuroxima e cefprozil e o segundo grupo composto por cefamicina, cefmetazol, cefotetan e cefoxitina. Essa geração também apresenta ação limitada contra bactérias Gram-negativas. Já as cefalosporinas de terceira geração incluem cefotaxima, ceftazidima, cefdinir, ceftriaxona, cefpodoxima, cefoperazona e cefixima, sendo que esses fármacos apresentam amplo espectro de ação contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e são escolhidos para tratar infecções causadas por microrganismos Gram-negativos que foram resistentes à primeira e segunda geração de cefalosporinas ou a outros antimicrobianos β -lactâmicos (Bui *et al.*, 2025; Fong, 2023; Hardie Boys; Pletzer, 2025).

As cefalosporinas de quarta geração têm como principal representante o cefepime, um fármaco de amplo espectro de ação, especialmente eficaz contra bactérias Gram-negativas. Devido ao seu perfil farmacológico, é geralmente reservado para o tratamento de infecções sistêmicas graves causadas por microrganismos multirresistentes. As cefalosporinas de quinta geração, como ceftarolina e ceftobiprole, apresentam espectro de ação ampliado, mantendo boa atividade contra bactérias Gram-negativas (Bui *et al.*, 2025; Fong, 2023; Hardie Boys; Pletzer, 2025).

Os carbapenêmicos constituem um grupo de antibióticos β -lactâmicos frequentemente utilizados como terapia de última linha no tratamento de infecções causadas por bactérias Gram-negativas multirresistentes. Entre os principais representantes estão o imipenem, meropenem, ertapenem, doripenem, panipenem e biapenem. As enterobactérias produtoras de carbapenemases correspondem a bactérias capazes de hidrolisar os carbapenêmicos, tornando-os ineficazes. Embora as carbapenemases tenham sido inicialmente associadas a isolados da família das enterobactérias, a produção dessa enzima já foi identificada em outros patógenos Gram-negativos, como *Acinetobacter* spp. e *Pseudomonas* spp. (Alvisi *et al.*, 2025).

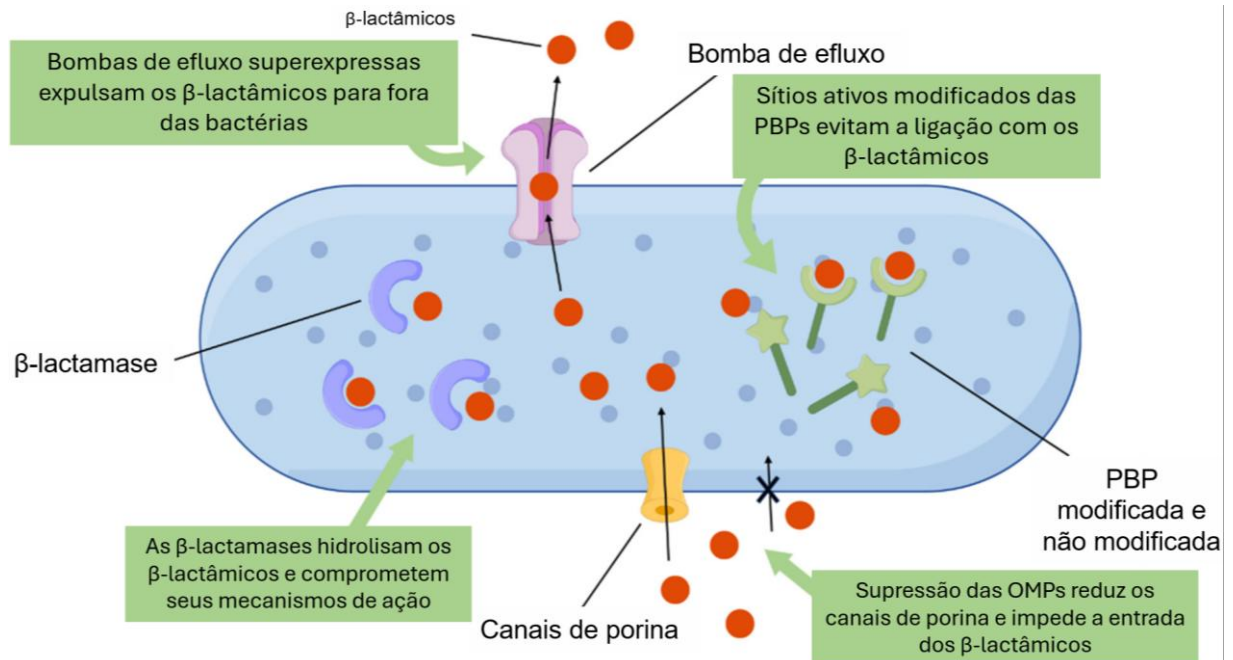
Os monobactâmicos constituem uma classe de antibióticos β -lactâmicos cujo principal representante é o aztreonam. Esse fármaco destaca-se por sua estabilidade frente às metalo- β -lactamases, enzimas produzidas por determinadas bactérias capazes de hidrolisar e inativar outros antibióticos β -lactâmicos. Além disso, o aztreonam apresenta atividade seletiva contra bactérias Gram-negativas, sendo frequentemente empregado no tratamento de infecções causadas por patógenos

resistentes, especialmente quando o uso de outros β -lactâmicos é limitado por mecanismos de resistência ou alergias (Dean *et al.*, 2018).

Como as proteínas ligadoras de penicilina (PBPs) são o alvo primário da ação dos antibióticos β -lactâmicos, qualquer alteração em sua estrutura e/ou função pode resultar em RAM a esses fármacos (Halawa *et al.*, 2024). Em 2017, a OMS publicou pela primeira vez uma lista de 12 microrganismos prioritários que representam uma ameaça significativa à saúde humana devido ao seu potencial de desenvolver e disseminar RAM. Entre eles, destacam-se as bactérias da família Enterobacteriaceae produtoras de β -lactamases de espectro estendido ESBL (Extended Spectrum β -Lactamase) (Nauta *et al.*, 2021; Willyard, 2017).

Os mecanismos de resistência aos antibióticos β -lactâmicos envolvem a produção de β -lactamases, mudança dos sítios ativos das PBP, regulação negativa das proteínas da membrana externa (OMPs) e superexpressão de bombas de efluxo (Figura 9) (Zhang *et al.*, 2024).

Figura 9 – Mecanismos de resistência antimicrobiana ao grupo dos antibióticos β -lactâmicos.



Fonte: Traduzido de Zhang *et al.*, 2024.

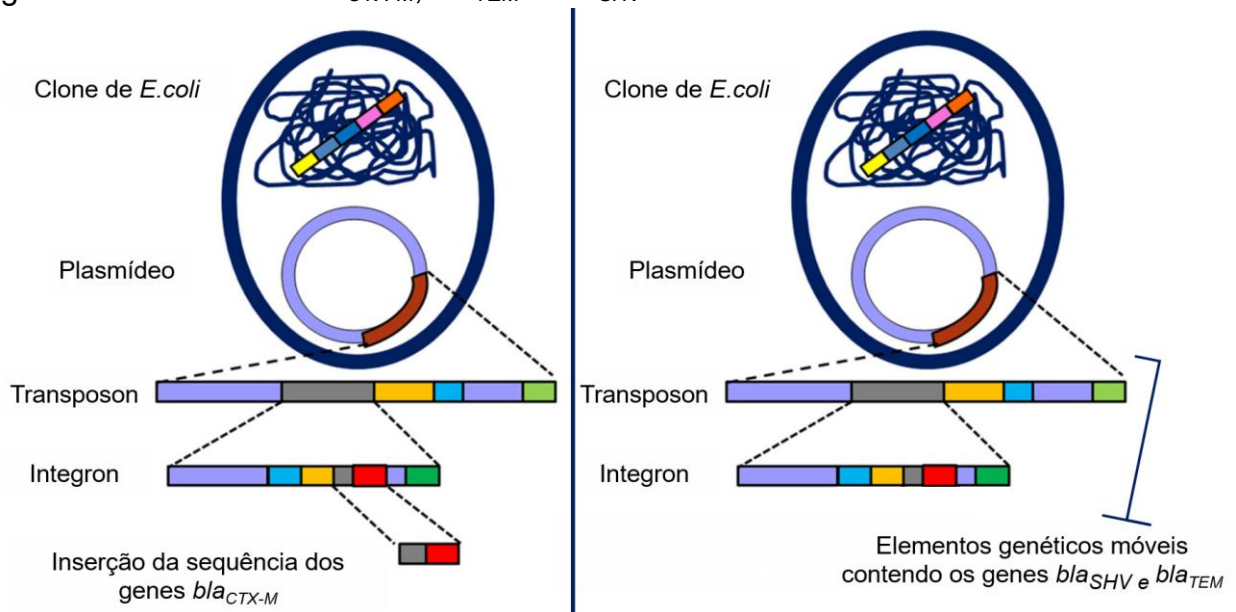
Legenda: PBP – transpeptidase (Proteínas Ligadoras de Penicilina); OMP – proteínas da membrana externa.

As enzimas ESBL possuem a capacidade de hidrolisar antibióticos β -lactâmicos, especialmente as cefalosporinas de terceira e quarta gerações, como

cefotaxima, ceftazidima, ceftriaxona, cefuroxima e cefepime, além do monobactâmico aztreonam. Atualmente, mais de 300 variantes de ESBL já foram descritas em bactérias Gram-negativas (Ali *et al.*, 2024; Castanheira *et al.*, 2021; Ibrahim *et al.*, 2021).

Para *E. coli* as principais ESBLs produzidas pertencem às famílias CTX-M, TEM e SHV, codificadas, respectivamente, pelos genes *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM} e *bla*_{SHV}. O gene *bla*_{CTX-M} aumentou nos últimos anos, estando entre os tipos mais prevalentes. A família *bla*_{CTX-M} inclui mais de 130 variantes de β-lactamases classificadas em cinco grupos distintos: *bla*_{CTX-M-1}, *bla*_{CTX-M-2}, *bla*_{CTX-M-8}, *bla*_{CTX-M-9} e *bla*_{CTX-M-25}. É importante destacar que todos esses genes estão frequentemente localizados em plasmídeos (Figura 10) (Ali *et al.*, 2024; Castanheira *et al.*, 2021; Ibrahim *et al.*, 2021).

Figura 10 – Representação da estrutura genética de *Escherichia coli* contendo os genes de resistência *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM} e *bla*_{SHV}.



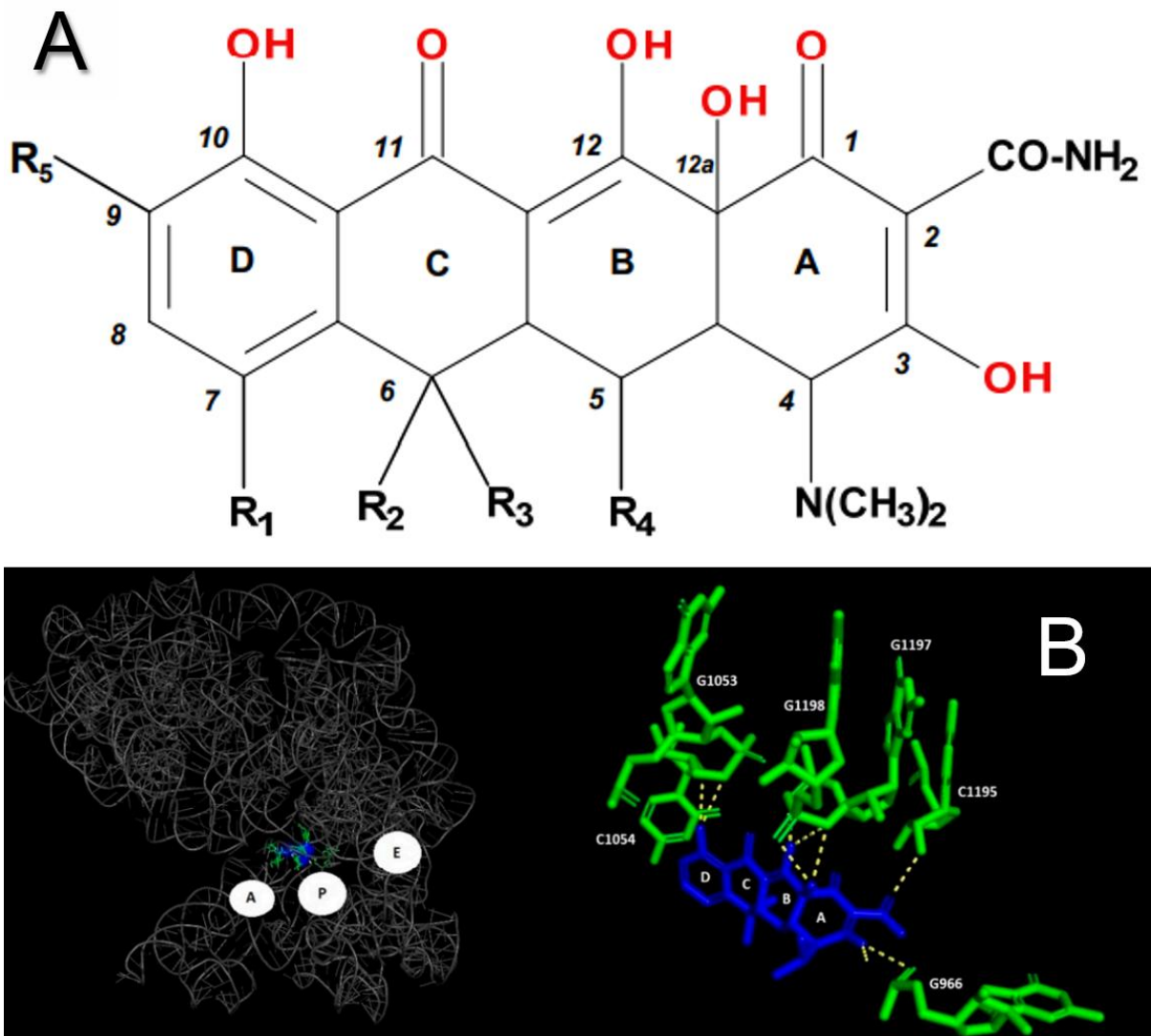
Fonte: traduzido e adaptado de Cantón *et al.*, 2012.

Considerando a frequente presença de *E. coli* em queijos artesanais reforça-se a necessidade de identificar genes associados aos mecanismos de RAM como *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM} e *bla*_{SHV}, a fim de compreender a epidemiologia desses determinantes genéticos e avaliar o impacto de sua disseminação sobre a saúde pública (Chaudhary *et al.*, 2023).

2.7.1.2 Resistência antimicrobiana as tetraciclina

A tetraciclina é um antibiótico descoberto na década de 1940, sendo caracterizada por sua estrutura de quatro anéis benzênicos condensados (Figura 11A) (Rusu; Buta, 2021).

Figura 11 – Mecanismo de ação das tetraciclina inibindo a síntese proteica bacteriana.



Fonte: Rusu; Buta, 2021; Krawczyk *et al.*, 2024.

Legenda: A: estrutura química geral das tetraciclina com a numeração e posições-chave dos anéis; B: Sítio de ligação da tetraciclina. Esquerda - sítios funcionais A, P e E; estrutura cinza rRNA; estrutura azul: tetraciclina; estrutura verde: rRNA interagindo com a tetraciclina; Direita: representação da tetraciclina interagindo com o rRNA.

As tetraciclina atuam inibindo a síntese proteica bacteriana por meio da ligação de sua molécula à subunidade ribossomal 30S. Essa interação ocorre

especificamente no sítio A do rRNA 16S, onde o antibiótico estabelece ligações de hidrogênio e interações de empilhamento (π - π) com nucleotídeos localizados na hélice 34 (H34). Assim, a H34, presente no rRNA 16S da subunidade 30S, desempenha um papel fundamental na ancoragem da tetraciclina. Essa região é composta principalmente pelos nucleotídeos G1195, G1197, G1198 e C1054, que participam diretamente da interação com o fármaco, formando uma “pinça molecular” que o mantém firmemente ligado ao ribossomo (Figura 11B). Como consequência dessa ligação, ocorre o bloqueio da entrada do aminoacil-tRNA no sítio A, impedindo a adição de novos aminoácidos à cadeia polipeptídica em elongação. Dessa forma, a formação da cadeia proteica é interrompida, resultando na inibição da síntese proteica e, conseqüentemente, na morte celular (Halawa *et al.*, 2024; Krawczyk *et al.*, 2024; Pioletti *et al.*, 2001).

Embora a tetraciclina tenha sido descoberta na década de 1940, a partir da estrutura química da clortetraciclina, o composto só foi introduzido no mercado em 1953, após sucessivas otimizações moleculares. Atualmente, as tetraciclinas são classificadas em três gerações, conforme sua evolução estrutural e propriedades farmacológicas. A primeira geração das tetraciclinas inclui os compostos clortetraciclina, oxitetraciclina e tetraciclina (Laplante *et al.*, 2022; Pearson *et al.*, 2025).

A segunda geração das tetraciclinas surgiu a partir de modificações semissintéticas da estrutura básica da tetraciclina, com o objetivo de melhorar as propriedades farmacocinéticas e reduzir os efeitos adversos associados aos compostos da primeira geração. Entre os principais representantes estão a meticiclina, a doxiciclina e a minociclina. Esses derivados apresentam maior lipossolubilidade, o que lhes confere melhor absorção oral, maior penetração tecidual e meia-vida prolongada em comparação às tetraciclinas da primeira geração. Além disso, possuem maior estabilidade em meio ácido, reduzindo a degradação no trato gastrointestinal. Do ponto de vista clínico, as tetraciclinas de segunda geração mantêm amplo espectro de ação contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Essas melhorias tornaram compostos como a doxiciclina amplamente utilizados até hoje em infecções respiratórias e urogenitais (Laplante *et al.*, 2022; Pearson *et al.*, 2025). Na Renome o único antibiótico da classe das tetraciclinas presente é a

doxiciclina, como componente básico de atenção à saúde e com classificação Aware de acesso (Brasil, 2024f).

Já a terceira geração das tetraciclina, aprovada nos últimos 18 anos, é formada por agentes gliciliclinas e análogos avançados, incluindo tigeciclina, eravaciclina e omadaciclina, desenvolvidos para superar mecanismos de resistência bacteriana às tetraciclina clássicas. Esses compostos apresentam modificações químicas no anel D da estrutura tetracíclica, o que lhes confere maior afinidade pelos ribossomos bacterianos e resistência à ação das bombas de efluxo e das proteínas de proteção ribossomal, dois dos principais mecanismos de resistência às tetraciclina das gerações anteriores. A tigeciclina, primeira gliciliclina aprovada para uso clínico, exibe amplo espectro de ação, incluindo ESBL. A eravaciclina e a omadaciclina, desenvolvidas posteriormente, mantêm propriedades semelhantes, mas com melhor perfil farmacocinético e maior estabilidade química, permitindo administração intravenosa ou oral (Laplante *et al.*, 2022; Pearson *et al.*, 2025).

A RAM às tetraciclina foi observada desde o início do seu uso clínico, sendo relatada tanto em bactérias Gram-positivas quanto Gram-negativas. Essa resistência ocorre, predominantemente, por meio da transferência horizontal de genes, mediada por plasmídeos, transposons e pilli conjugativos, o que facilita a disseminação desses GRA entre diferentes espécies bacterianas. A resistência às tetraciclina em patógenos humanos tem se caracterizado por ciclos evolutivos recorrentes, nos quais o desenvolvimento e a introdução de novas gerações de tetraciclina são rapidamente seguidos pela emergência de novos mecanismos de resistência (Blake *et al.*, 2025; Laplante *et al.*, 2022; Markley; Wencewicz, 2018; Ramírez-Bayard *et al.*, 2023).

Assim, apesar do amplo espectro de ação e da relevância terapêutica dessa classe no tratamento de diversas infecções humanas e veterinárias como aquelas causadas por *Chlamydia* spp., pneumonias atípicas e acne inflamatória, o uso clínico das tetraciclina tem diminuído ao longo das últimas décadas devido ao aumento da RAM (Blake *et al.*, 2025; Laplante *et al.*, 2022; Markley; Wencewicz, 2018; Ramírez-Bayard *et al.*, 2023).

Dentre os mecanismos de resistência às tetraciclina, destacam-se as bombas de efluxo ativas, a modificação enzimática do alvo ribossomal, a redução da permeabilidade da membrana ao fármaco, a degradação enzimática do antibiótico e as mutações genéticas (Perewari *et al.*, 2022). As mutações podem aumentar a

expressão de bombas de efluxo ou alterar proteínas ribossomais, reduzindo a afinidade da tetraciclina por seu sítio de ligação e, conseqüentemente, a eficácia do tratamento. De forma semelhante ao que ocorre com outros antibióticos como os β -lactâmicos, a exposição prolongada ou inadequada aos antibióticos exerce uma pressão seletiva sobre as populações bacterianas, favorecendo a sobrevivência e multiplicação de cepas portadoras de genes de resistência (Hoeksema *et al.*, 2019).

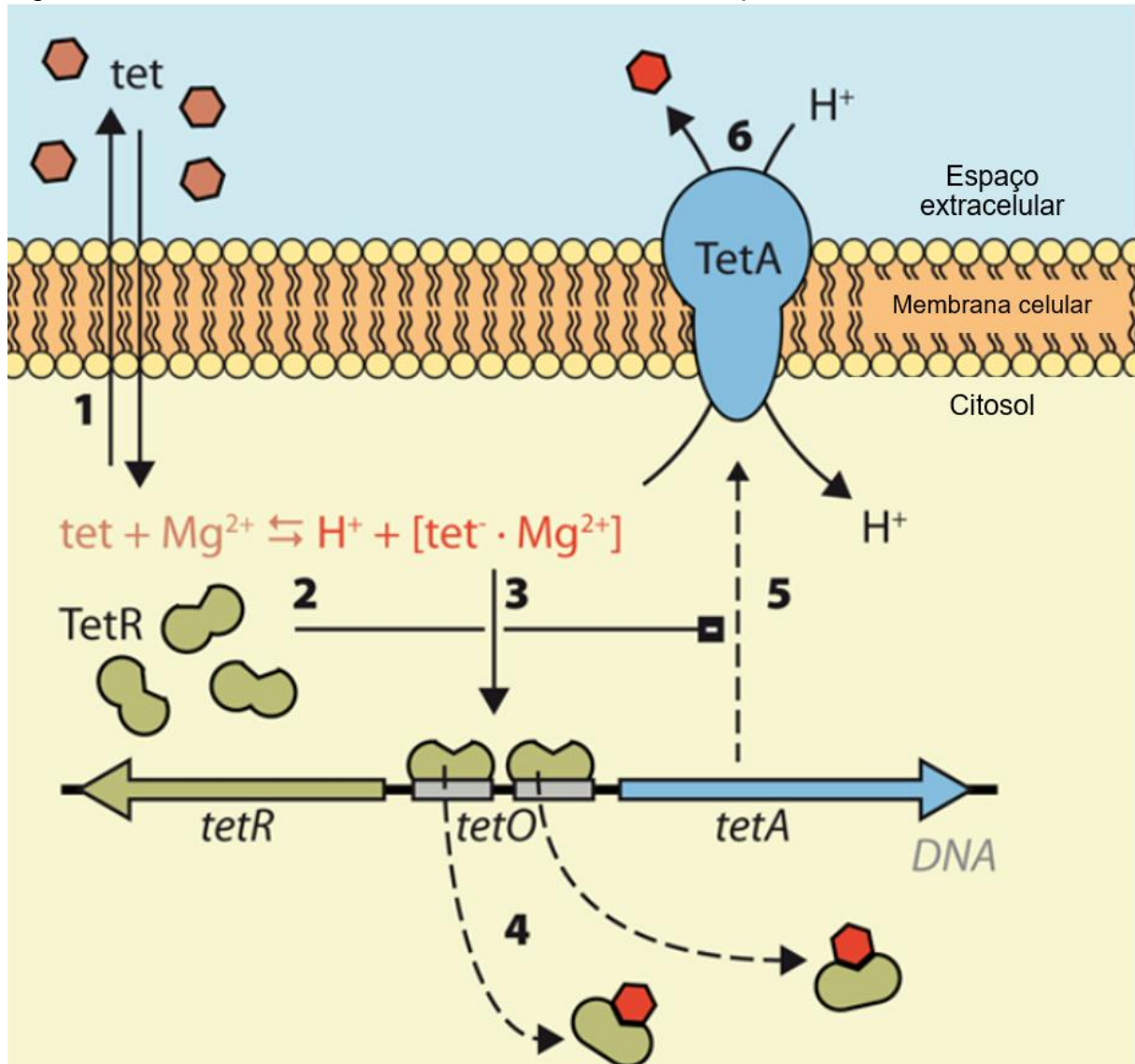
As bombas de efluxo representam cerca de 60% de todos os genes associados à resistência às tetraciclinas. Esses sistemas atuam por meio da codificação de proteínas de membrana responsáveis por expulsar ativamente o antibiótico para fora da célula bacteriana, reduzindo assim sua concentração intracelular. Com a diminuição da quantidade de fármaco disponível no citoplasma, o ribossomo permanece protegido da ligação da tetraciclina, impedindo a inibição da síntese proteica e, conseqüentemente, evitando a morte celular. Devido à sua ampla disseminação e eficácia na neutralização da ação do antibiótico, as bombas de efluxo são reconhecidas como o mais prevalente mecanismo de resistência às tetraciclinas (Bhattacharjee, 2022; Blake *et al.*, 2025).

As proteínas de efluxo de tetraciclina são codificadas pelos genes de resistência *tet*. Assim, são descritos na literatura nove genes associados a *E. coli*: *tetA*, *tetB*, *tetC*, *tetD*, *tetE*, *tetG*, *tetJ*, *tetL* e *tetY*. No entanto, os genes *tetA*, *tetB* e *tetC* são os mais frequentes em *E. coli* e costumam aparecer simultaneamente (Ramírez-Bayard *et al.*, 2023; Ugbo *et al.*, 2025). Os genes *tetA* e *tetB* estão localizados nos plasmídeos bacterianos, portanto, podem se replicar de forma independente do cromossomo bacteriano. A transferência de resistência acontece horizontalmente por conjugação (Wang *et al.*, 2024).

As bombas de efluxo de tetraciclina reguladas por repressores são geralmente codificadas por dois genes organizados em orientações opostas, denominados *tetA* e *tetR*, separados por uma região intergênica. Essa região contém dois promotores divergentes: um responsável pela expressão de *tetR*, que codifica a proteína repressora TetR, e outro que controla a expressão de *tetA*, que codifica a bomba de efluxo TetA. A região intergênica também apresenta dois sítios operadores (*tetO*), que regulam a expressão gênica. Na ausência do antibiótico, a proteína TetR permanece ligada aos sítios *tetO*, bloqueando a transcrição de *tetA* e *tetR*. Na presença da tetraciclina, a molécula do antibiótico se liga à TetR, promovendo uma mudança

conformacional na proteína. Essa alteração reduz a afinidade de TetR pelos operadores *tetO*, liberando a região promotora e permitindo a expressão dos genes *tetA* e *tetR*. Como resultado, a bomba de efluxo TetA é produzida e expulsa ativamente o antibiótico do interior da célula, conferindo resistência (Figura 12) (Jiang *et al.*, 2013; Møller *et al.*, 2016).

Figura 12 – Mecanismos de resistência as tetraciclina por bomba de efluxo.



Legenda: (1) Tetraciclina; (2) Repressor *tetR* impede a transcrição do gene *tetA*, quando não tem tetraciclina no meio; (3) Tetraciclina forma complexos com íons bivalentes (Mg^{2+}); (4) Complexo liga-se ao *tetR* (repressor proteico). Há uma mudança conformacional na proteína e sua dissociação do *tetO*; (5) O antiporte *tetA*, e o próprio *tetR*, são sintetizados; (6) *tetA* exporta os complexos (tetraciclina mais Mg^{2+}) para fora do citosol, aproveita e importa prótons.

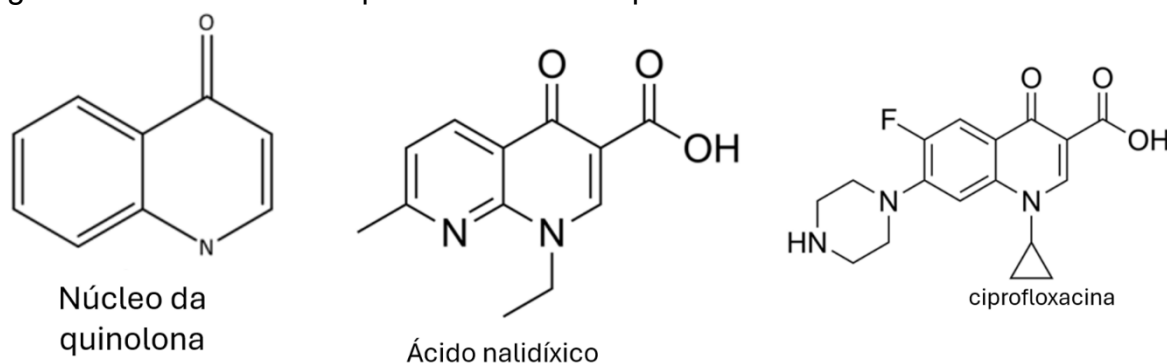
A presença de genes *tet* em *E. coli* isolada de queijo é um forte indicativo de que essas bactérias receberam plasmídeos de outras bactérias presentes na cadeia

produtiva do queijo ou do ambiente. Portanto, queijos de leite cru com presença de *E. coli* podem ser reservatórios de genes de resistência à tetraciclina que podem ser transferidos horizontalmente para outros hospedeiros (Flórez; Mayo, 2017). Para identificação desses genes, frequentemente é utilizada a técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR) e o sequenciamento gênico para a caracterização molecular (Beheshti *et al.*, 2020).

2.7.1.3 Resistência antimicrobiana as quinolonas

As quinolonas são uma classe de antibióticos bactericidas que contém uma estrutura central bicíclica (Figura 13). A quinolona foi descoberta no início da década de 1960 e rapidamente ganhou importância no tratamento de infecções bacterianas adquiridas tanto na comunidade quanto em ambientes hospitalares (Pham *et al.*, 2019).

Figura 13 – Estrutura das quinolonas e fluoroquinolonas.



Fonte: adaptado de Rodrigues; Silva, 2025.

Legenda: ácido nalidíxico: primeira quinolona.

A descoberta do ácido nalidíxico, a primeira quinolona sintetizada, quimicamente descrito como ácido 1-etil-7-metil-4-oxo-1,8-naftiridina-3-carboxílico (Figura 13), marcou o ponto de partida para o desenvolvimento das fluoroquinolonas, uma subclasse das quinolonas caracterizada pela presença de um átomo de flúor na posição C-6 do anel quinolônico, o que amplia o espectro antibacteriano e melhora as propriedades farmacocinéticas. A ciprofloxacina (Figura 13) é uma fluoroquinolona que apresenta maior biodisponibilidade e penetração tecidual, atingindo concentrações mais elevadas no soro, nos tecidos e no interior das células quando comparada ao

ácido nalidíxico e essas características conferem maior ação contra bactérias Gram-negativas (Maris *et al.*, 2021).

Até 2020, quatro gerações de quinolonas foram desenvolvidas e introduzidas com sucesso na prática clínica, cada uma apresentando aprimoramentos em termos de espectro de ação, estabilidade e segurança terapêutica (Dube *et al.*, 2023; Rodrigues; Silva, 2025). A primeira geração de quinolonas compreende os compostos ácido nalidíxico, ácido oxolínico e ácido pipemídico, caracterizados por sua atividade restrita a bactérias Gram-negativas e uso predominante em infecções do trato urinário (Millanao *et al.*, 2021; Pham *et al.*, 2019).

A segunda geração de quinolonas inclui norfloxacin, enoxacin, ciprofloxacina, ofloxacina, rufloxacina, lomefloxacina, pefloxacina e enrofloxacina. Esses fármacos apresentam melhor penetração tecidual, além de um espectro ampliado, cobrindo diversas espécies de microrganismos Gram-negativos e alguns Gram-positivos. Na terceira geração de quinolonas, destacam-se temafloxacino, sparfloxacino, grepafloxacino e levofloxacino, que exibem atividade aprimorada contra bactérias Gram-positivas, incluindo *Streptococcus pneumoniae* (Millanao *et al.*, 2021; O'lipphant e Green, 2002).

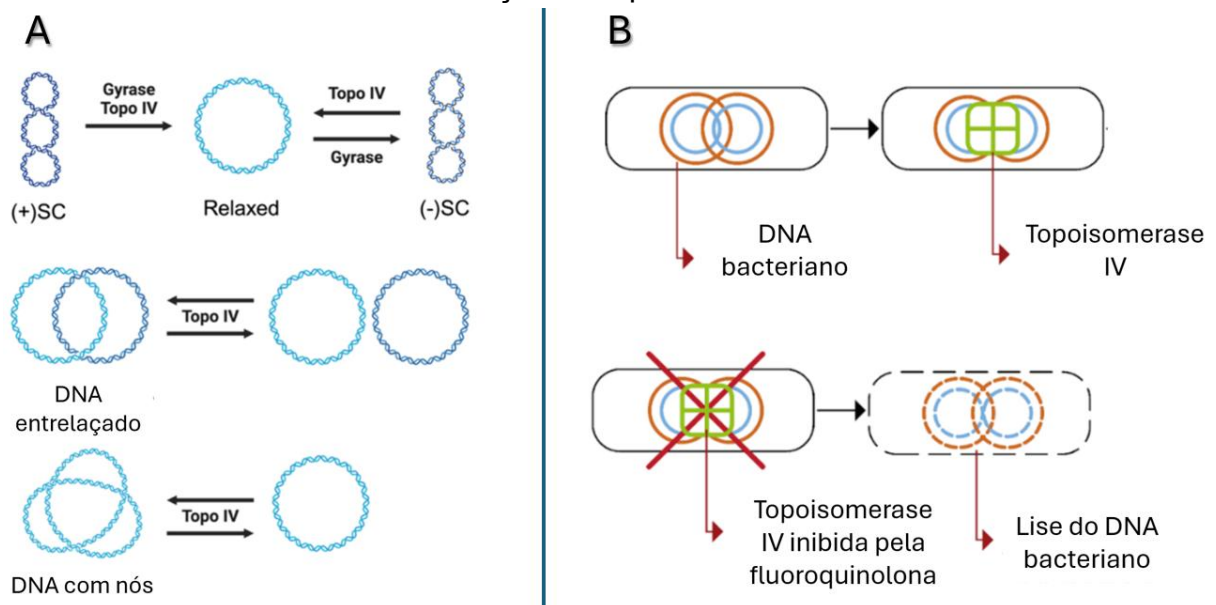
Por fim, a quarta geração de quinolonas engloba compostos como clinafloxacino, trovafloxacino, moxifloxacino, gatifloxacino e sitafloxacino, que se distinguem por seu amplo espectro de ação, incluindo atividade contra anaeróbios e microrganismos resistentes às gerações anteriores (Millanao *et al.*, 2021).

As quinolonas são amplamente utilizadas no tratamento de infecções do trato urinário e infecções respiratórias, além de apresentarem eficácia em outras infecções sistêmicas causadas por bactérias Gram-negativas e Gram-positivas. O mecanismo de ação dessas moléculas baseia-se na inibição da síntese dos ácidos nucleicos bacterianos, por meio da interferência nas enzimas DNA girase (topoisomerase II) e topoisomerase IV. Essas enzimas são essenciais para os processos de replicação, transcrição e superenovelamento do DNA bacteriano. A inibição de sua atividade impede a replicação do material genético, levando à morte celular bacteriana (Jia; Zhao, 2021; Kaur *et al.*, 2022).

A DNA girase, também conhecida como topoisomerase II, é uma enzima encontrada apenas em bactérias e é conhecida por sua capacidade de converter substratos de DNA circular fechado e relaxado em moléculas superenoveladas (Figura

14A). Essa conversão é essencial para a vida do microrganismo porque o superenovelamento permite a compactação cromossomal, garantindo que o DNA caiba no interior da célula. O superenovelamento reduz a tensão torsional gerada durante a replicação, facilitando o desenovelamento local da dupla hélice (condição necessária para o início da transcrição pela RNA polimerase) (Collin *et al.*, 2011; Collins; Osheroff, 2024).

Figura 14 – Mecanismo de ação da DNA girase e da topoisomerase IV na síntese de DNA bacteriano e mecanismo de ação das quinolonas.



Fonte: traduzido e adaptado de Aragão, 2023; Collins; Osheroff, 2024.

Legenda: topo IV – topoisomerase IV; (+SC) – superenovelamento positivo; Relaxed – DNA relaxado (sem tensão); (-SC) – superenovelamento negativo (subenrolado).

Até 1990, acreditava-se que a enzima topoisomerase II (DNA girase) era a única topoisomerase presente em bactérias. No entanto, estudos de triagem genética para mutações revelaram que cepas de *E. coli* possuíam uma segunda enzima com mecanismo de ação homólogo ao da DNA girase, denominada topoisomerase IV. Essa enzima é responsável pela separação das moléculas de DNA-filhas, um processo conhecido como desvinculamento cromossômico (Collins; Osheroff, 2024; Hirsch e Klostermeier, 2021).

Embora a DNA girase e a topoisomerase IV compartilhem semelhanças estruturais e funcionais, suas funções específicas durante a replicação do DNA bacteriano diferem. Enquanto a DNA girase atua principalmente no superenovelamento negativo do DNA, a topoisomerase IV é essencial para a

segregação final dos cromossomos após a replicação, funções que, em conjunto, se complementam no controle da topologia do DNA (Collins; Osheroff, 2024; Zechiedrich *et al.*, 1997).

A DNA girase é formada pelas subunidades GyrA₂ e GyrB₂, enquanto a topoisomerase IV é constituída por ParC₂ e ParE₂. As subunidades GyrA e ParC são homólogas entre si, assim como GyrB e ParE, refletindo a origem evolutiva comum e a conservação funcional dessas enzimas. As subunidades GyrA e ParC contêm o domínio de quebra e reunificação do DNA (*breakage–reunion domain*), responsável por reconhecer, dobrar e clivar a dupla-hélice durante o processo de passagem e religação das fitas de DNA. Por sua vez, as subunidades GyrB e ParE abrigam o domínio ATPase pertencente à superfamília GHKL (*Gyrase, Hsp90, Histidine Kinase, MutL*), que fornece a energia necessária para a abertura e fechamento dos portões catalíticos, religação das fitas de DNA e progressão do ciclo enzimático. A coordenação precisa entre esses domínios estruturais permite que tanto a DNA girase quanto a topoisomerase IV realizem modificações topológicas complexas na molécula de DNA com elevada especificidade e eficiência catalítica (Figura 14A) (Hirsch; Klostermeier, 2021; Hooper; Jacoby, 2016).

Portanto, o mecanismo de ação das quinolonas baseia-se fundamentalmente na interferência com o funcionamento da DNA girase e da topoisomerase IV (Figura 14B). A inibição da DNA girase leva ao acúmulo de superenrolamentos positivos à frente das forquilhas de replicação e transcrição, o que resulta na redução da síntese de DNA e RNA. Já a inibição da topoisomerase IV impede o desenredamento e a separação adequada dos cromossomos-filhos após a replicação, o que pode culminar na interrupção da divisão celular ou em segregação cromossômica incorreta (Bush *et al.*, 2020).

Entretanto, algumas bactérias conseguem sobreviver à exposição às quinolonas por meio do desenvolvimento de RAM, frequentemente associada a mutações nos genes que codificam as subunidades da DNA girase e da topoisomerase IV. Assim, a resistência às quinolonas está relacionada a alterações estruturais nessas enzimas, que reduzem a afinidade das quinolonas pelos seus alvos moleculares. Tais alterações resultam de mutações nas regiões determinantes de resistência às quinolonas (QRDR, do inglês *Quinolone Resistance-Determining*

Region) dos genes *gyrA* e *parC* (Alvarez-Hernandez *et al.*, 2015; Qin *et al.*, 2015; Spencer; Panda, 2023).

De modo geral, mutações nos genes *gyrA*, *gyrB*, *parC* e *parE* afetam diretamente a suscetibilidade das cepas às quinolonas (Juraschek *et al.*, 2021). A substituição de um único aminoácido em qualquer um desses genes pode ser suficiente para a expressão do fenótipo resistente. Essas modificações ocorrem predominantemente nos domínios amino-terminais das subunidades GyrA e ParC, regiões críticas para a ligação das quinolonas (Hooper; Jacoby, 2016). Assim, as mutações promovem alterações na conformação tridimensional das enzimas-alvo, o que reduz a afinidade do fármaco pelo sítio de ligação. Como consequência, o antibiótico perde sua capacidade de se ligar de forma eficaz, resultando na manifestação do fenótipo de resistência (Kivata *et al.*, 2019).

Portanto, observa-se atualmente um aumento na ocorrência de patógenos Gram-negativos resistentes às quinolonas (Rodrigues; Silva, 2025). A OMS publicou uma lista de “antimicrobianos de importância médica”, com o objetivo de reduzir o risco de desenvolvimento de RAM decorrente do uso desses fármacos em contextos não humanos. Nesse documento, os antimicrobianos são classificados com base em três fatores de priorização: (i) o número de pessoas afetadas por doenças com opções terapêuticas limitadas; (ii) a frequência de uso e a probabilidade de desenvolvimento de resistência; e (iii) a existência de evidências de transmissão de bactérias ou genes resistentes a partir de fontes não humanas, como animais, alimentos e ambiente. Dessa forma, quando um antimicrobiano atende aos três critérios de prioridade, ele deve ser tratado com controle rigoroso e uso altamente restrito, especialmente quando prescrito para fins não humanos como na produção animal. As quinolonas integram o grupo de antimicrobianos classificados como críticos em todos os três fatores de priorização, o que reforça sua importância e a necessidade de uso prudente (WHO, 2024).

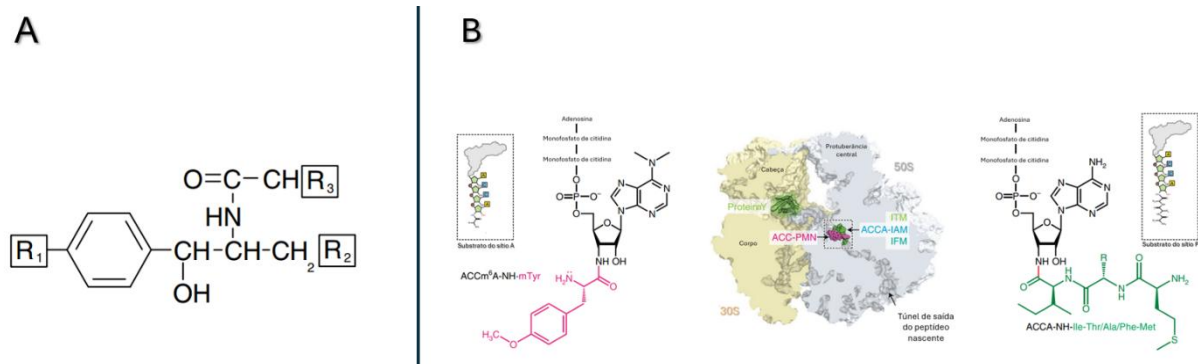
Além disso, cepas de *Campylobacter spp.*, *Salmonella spp.* e *E. coli* resistentes às fluoroquinolonas têm sido positivamente correlacionadas ao uso desses fármacos na produção animal (Fei *et al.*, 2022). No contexto nacional, conforme a Rename, o Brasil inclui apenas a ciprofloxacina e a oxacilina no componente básico de saúde, ambas classificadas na categoria “Acesso (Access)” segundo o sistema AWaRe (Brasil, 2024f).

Considerando a possibilidade de ocorrência de cepas de *E. coli* isoladas de queijos artesanais que apresentem resistência às quinolonas, como à ciprofloxacina, torna-se essencial identificar e caracterizar esses isolados. Essa vigilância é fundamental para prevenir a disseminação de cepas resistentes e evitar a contaminação cruzada ao longo da cadeia alimentar, especialmente por meio do consumo de leite cru, derivados lácteos e carnes contaminadas (Shoab *et al.*, 2023).

2.7.1.4 Resistência antimicrobiana aos fenicóis

Os fenicóis constituem uma classe de antibióticos de amplo espectro, caracterizados pela presença de um anel benzênico com um grupo hidroxila (–OH) (Figura 15A). O principal representante dessa classe é o cloranfenicol, embora também existam derivados sintéticos, como o tianfenicol e o florfenicol, desenvolvidos para uso principalmente veterinário. O cloranfenicol foi descoberto em 1947 e seu mecanismo de ação ocorre principalmente pela inibição da síntese proteica bacteriana (Graf *et al.*, 2024).

Figura 15 – Inibição do centro da peptidiltransferase do ribossomo pelo antibiótico cloranfenicol.



Fonte: traduzido e adaptado de Schwarz *et al.*, 2004; Syroegin *et al.*, 2022.

Legenda: (A) estrutura molecular do cloranfenicol; (R1) radical 1; (R2) radical 2; (R3) radical; (B) representação estrutural do mecanismo de inibição do cloranfenicol no centro peptidiltransferase (PTC) do ribossomo 50S; Rosa) cloranfenicol se liga ao PTC, sobrepondo-se parcialmente aos sítios A e P e bloqueando a formação da ligação peptídica com inibição da elongação da cadeia polipeptídica.

A molécula do cloranfenicol foi isolada pela primeira vez da bactéria do solo *Streptomyces venezuelae*, a qual foi utilizada como protótipo para os seus derivados como florfenicol (utilizado apenas na medicina veterinária), tiamfenicol e azidamfenicol. Todos os derivados foram sintetizados por substituições químicas de

grupos fluoro e sulfometil. Além de apresentar atividade contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, os antibióticos dessa classe também são eficazes contra micoplasmas, riquétsias e clamídias. Estruturalmente, o cloranfenicol é constituído por um anel p-nitrobenzeno ligado a uma cadeia dicloroacetil por intermédio de uma porção 2-amino-1,3-propanodiol (Figura 15A) (Bale *et al.*, 2023; Tevyashova, 2021).

Embora a origem natural do cloranfenicol tenha permitido a identificação e caracterização da molécula, o processo de produção industrial não utilizou o microrganismo, sendo o antibiótico obtido por síntese química total, dado o baixo rendimento da via biológica. Assim, o cloranfenicol foi o primeiro antibiótico natural isolado a ser completamente sintetizado quimicamente de forma eficiente e comercial, e usado no tratamento de infecções bacterianas em humanos e animais (Graf *et al.*, 2024; Li *et al.*, 2021).

Atualmente, o uso do cloranfenicol deve ser realizado com cautela, devido aos seus efeitos adversos potencialmente graves, como anemia aplástica irreversível, supressão reversível da medula óssea e a síndrome do bebê cinzento (em recém-nascidos). Por esse motivo, o fármaco teve seu uso descontinuado ou severamente restrito em diversos países, tanto na medicina humana quanto na veterinária. Entretanto, o cloranfenicol ainda é indicado como fármaco de escolha em alguns casos específicos, como infecções oculares ou infecções causadas por microrganismos multirresistentes, nas quais outras terapias são ineficazes. Além disso, permanece uma opção economicamente acessível e de fácil obtenção, o que contribui para sua utilização em contextos de recursos limitados (Graf *et al.*, 2024; Li *et al.*, 2021).

O cloranfenicol atua inibindo a síntese proteica bacteriana e interferindo na montagem ribossômica, com ação que provoca um desequilíbrio entre a produção de rRNA e de proteínas ribossômicas, resultando na desregulação da biogênese dos ribossomos. O fármaco exerce seu efeito especificamente sobre a subunidade 50S do ribossomo bacteriano, ligando-se ao centro funcional da enzima peptidiltransferase (*Peptidyl Transferase Center* – PTC), localizado no núcleo da subunidade ribossômica maior (50S) dos procariotos. Ao se ligar a esse sítio, o cloranfenicol bloqueia a formação de ligações peptídicas, interferindo na união dos aminoácidos durante a alongação da cadeia polipeptídica. Essa interrupção do processo de tradução leva ao comprometimento da síntese proteica e, conseqüentemente, à inviabilidade celular

bacteriana (Figura 15B) (Rohana *et al.*, 2023; Syroegin *et al.*, 2022; Yu; Zeng, 2024; Watkins *et al.*, 2025).

O desenvolvimento de RAM aos fenicóis envolve mecanismos de inativação enzimática (por meio da acetiltransferase codificada pelos genes *cat*), expressão de bomba de efluxo (associada ao gene *clmA*), redução da permeabilidade da membrana externa e mutação ou alteração do sítio-alvo (Puangseree *et al.*, 2024). É interessante destacar que alguns microrganismos aparentemente nunca expostos aos fenicóis possuem genes de resistência devido a transferência horizontal por elementos genéticos móveis ou integrons (Alcala *et al.*, 2020). Assim, os genes de resistência ao cloranfenicol estão presentes em transposons e plasmídeos (Figura 16A).

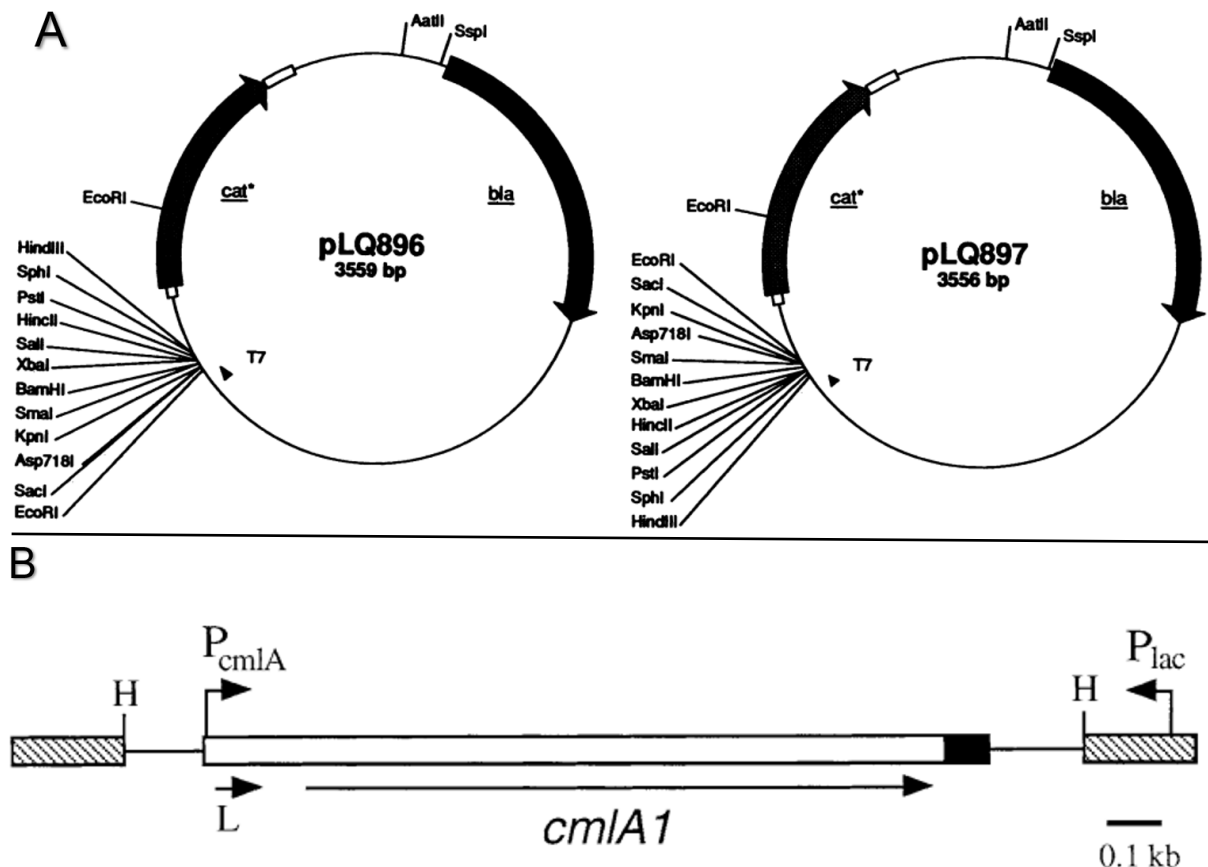
O mecanismo de resistência ao cloranfenicol mais prevalente está associado a produção enzimática de acetiltransferase, também conhecida como cloranfenicol acetiltransferase, codificada pelo gene *cat*. O mecanismo de ação da acetiltransferase baseia-se na acetilação do grupo hidroxila 3' do antibiótico, utilizando a acetil coenzima A (AcCoA) como doadora do grupo acetila. Essa modificação impede que o cloranfenicol se ligue à subunidade ribossômica 50S, tornando-o incapaz de inibir a síntese proteica bacteriana (Alcala *et al.*, 2020; Ghafoori *et al.*, 2021).

A classificação das enzimas Cat é feita com base na origem (espécie em que é encontrada), sequência e homologia estrutural. Por isso são agrupadas em três tipos principais, o tipo A (CatA), o tipo B (CatB) e o tipo C (CatC). O tipo A além de ser considerado uma Cat clássica ou nativa, demonstra maior afinidade aparente ao cloranfenicol é comumente encontrada em *E. coli* (Alcala *et al.*, 2020; Ghafoori *et al.*, 2021).

Outro mecanismo de resistência muito prevalente em cepas de *E. coli* está associado a codificação de bombas de efluxo específicas para cloranfenicol, majoritariamente associadas ao gene *cmIA* ou *clmA* (Puangseree *et al.*, 2024). O gene *cmIA* integra um cassete gênico móvel (Figura 16B), o que lhe confere a capacidade de deslocar-se entre diferentes elementos genéticos móveis, favorecendo a disseminação horizontal da resistência ao cloranfenicol. Esse cassete contém um promotor induzível, cuja ativação ocorre na presença do antibiótico. Evidências indicam que essa expressão gênica é regulada de forma dependente da concentração de cloranfenicol no ambiente, ajustando a tradução conforme o estímulo antibiótico (Bissonnette *et al.*, 1991; George; Hall, 2002).

Nessa forma de regulação pós-transcricional, o antibiótico interfere parcialmente na tradução de uma sequência líder do mRNA, promovendo uma reorganização estrutural que permite a síntese completa da proteína CmlA. Como resultado, a bactéria passa a expressar uma bomba de efluxo codificada por essa proteína, capaz de expulsar o cloranfenicol do citoplasma, reduzindo sua concentração intracelular. Vale ressaltar que essa bomba é funcional apenas na presença do antibiótico, refletindo a capacidade adaptativa das bactérias de otimizar o uso de energia e manter economia metabólica em ambientes livres de pressão seletiva (Bissonnette *et al.*, 1991; George; Hall, 2002).

Figura 16 – Estrutura de vetores de sondagem e do plasmídeo de expressão do cassete de resistência ao cloranfenicol (*cmlA*).



Fonte: Bissonnette *et al.*, 1991; George; Hall, 2002.

Legenda: (A) Estrutura dos vetores de sondagem de promotor pLQ896 e pLQ897 usados para verificar a funcionalidade das encontradas no cassete *cmlA* de In4. *cat**) gene de resistência ao cloranfenicol localizado nos plasmídeos; (B) Estrutura do plasmídeo com o gene *cmlA1* na região promotora.

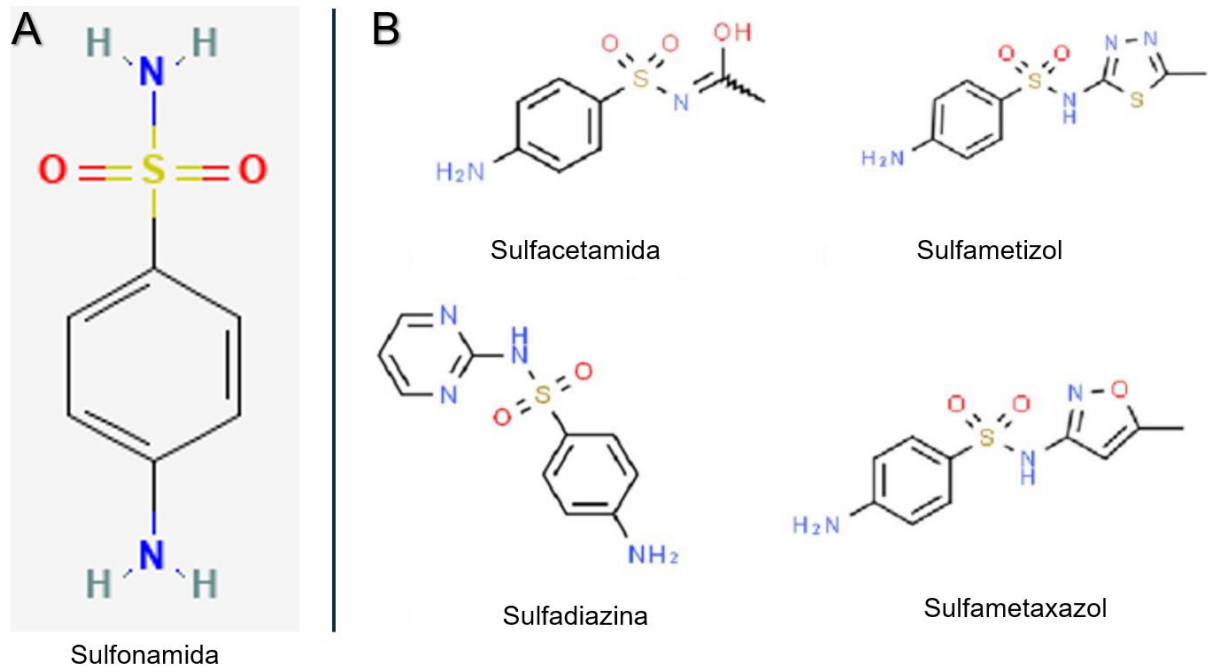
No Brasil, o cloranfenicol foi proibido em 2003 para o uso em animais destinados à produção de alimentos. Entretanto, o derivado fluorado florfenicol é

autorizado para o tratamento de infecções bacterianas em animais de produção de alimentos (Brasil, 2023b). Apesar da proibição, é importante reconhecer que as bactérias podem manter ou continuar a desenvolver RAM, mesmo após a restrição do uso de determinados antimicrobianos (Puangseree *et al.*, 2024). Assim, identificar a presença de RAM em microrganismos provenientes de alimentos é essencial para avaliar o papel desses produtos como possíveis vetores de genes de resistência, contribuindo para o monitoramento dos riscos à saúde pública (Chavan; Vashishth, 2025).

2.7.1.5 Resistência antimicrobiana as sulfonamidas

As sulfonamidas, também conhecidas como sulfanilamidas, constituem uma classe de antibióticos sintéticos introduzida na década de 1930, sendo reconhecidas como os primeiros agentes antimicrobianos sintéticos utilizados com sucesso no tratamento de infecções bacterianas. Estruturalmente, as sulfonamidas são compostos organossulfurados que contêm o grupo funcional sulfonamida ($-\text{SO}_2\text{NH}_2$) e/ou sulfonila ($-\text{SO}_2$). Os derivados dessa classe são obtidos por meio da substituição do grupamento R da p-aminobenzenossulfonamida por diferentes anéis heterocíclicos (Figura 17). Essas modificações estruturais conferem maior amplitude ao espectro de ação antibacteriano, possibilitando o desenvolvimento de moléculas com melhor atividade terapêutica e seletividade (Ovung; Bhattacharyya, 2021; Suo *et al.*, 2022).

Figura 17 – Estrutura molecular das sulfonamidas e derivados pela substituição do grupamento 'R' da p-aminobenzenossulfonamida.



Fonte: traduzido de National Library of Medicine, 2025; Xie *et al.*, 2024.

Legenda: (A) estrutura molecular da sulfonamida com o grupamento p-aminobenzenossulfonamida; (B) derivados da sulfonamida.

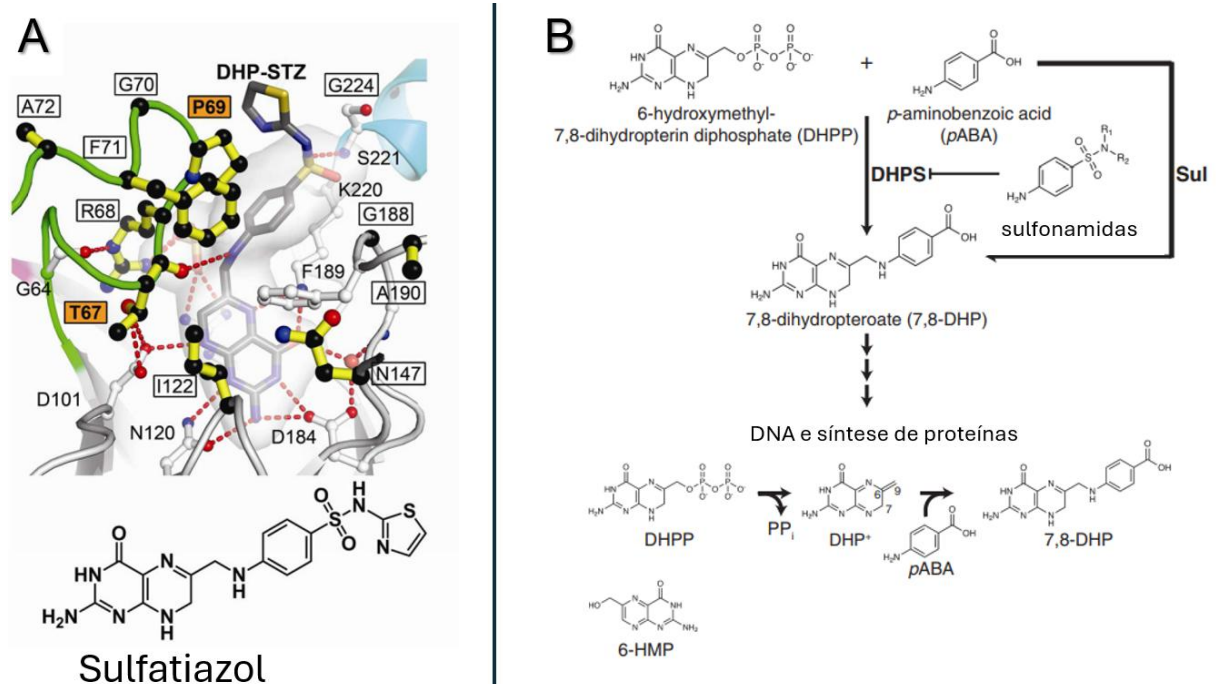
As sulfonamidas são antibióticos de amplo espectro de ação, empregadas no tratamento de infecções causadas por bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, tanto em humanos quanto em animais (Chhablani *et al.*, 2025). Além de sua reconhecida ação antibacteriana, as sulfonamidas possuem múltiplas aplicações terapêuticas, despertando interesse na medicina por suas propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes, diuréticas, antitumorais e anticancerígenas, bem como por sua atividade inibitória da anidrase carbônica e da enzima GSK (*glycogen synthase kinase*). Compostos derivados dessa classe têm sido estudados ainda no tratamento da doença de Alzheimer, além de apresentarem potencial antituberculoso, antidiabético, anti-HIV, antiviral e antimalárico (Verma *et al.*, 2020).

Dentro da classe das sulfonamidas estão: sulfanilamida, sulfadiazina, sulfatiazol, sulfacetamida, sulfisoxazol, sulfapiridina, sulfamerazina, sulfametizol, sulfametoxazol, sulfadimetoxina, sulfadoxina, sulfametazina (sulfadimidina), sulfaperina, sulfamonometoxina, sulfametoxipiridazina, sulfametoxidiazina, sulfacloropiridazina, sulfametaxazol e trimetoprima (Drugbank, 2025; Werth, 2024). A Rename apresenta apenas o sulfametaxazol e trimetoprima como componente básico de saúde, com classificação AWaRe de acesso (Brasil, 2024f).

O mecanismo de ação das sulfonamidas baseia-se na inibição competitiva da síntese bacteriana de ácido fólico, um cofator essencial para o crescimento e a replicação celular. Essas moléculas atuam como análogos estruturais do ácido p-aminobenzoico (PABA) e competem com ele pelo sítio ativo da enzima dihidropteroato sintetase (DHPS). Ao se ligarem à DHPS, as sulfonamidas substituem o PABA e formam adutos pterina-sulfa inativos, conhecidos como *dead-end complexes*, que impedem a conversão normal do PABA em ácido 7,8-diidropteroico. Dessa forma, ocorre o bloqueio da via de síntese do ácido fólico, comprometendo a formação do tetraidrofolato (THF), uma molécula fundamental para a síntese de purinas, timidilato, DNA e RNA bacterianos (Figura 18) (Nacional Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, 2017; Venkatesan *et al.*, 2023).

Em termos bioquímicos, as sulfonamidas condensam-se com o cofator 6-hidroximetil-7,8-di-hidropterina pirofosfato (DHPP), originando um produto anômalo e cataliticamente inativo. Assim, a ligação da sulfonamida à DHPS inibe o crescimento bacteriano de forma bacteriostática. É importante destacar que, como as células humanas não sintetizam ácido fólico, as sulfonamidas atuam seletivamente sobre as bactérias, apresentando baixa toxicidade ao hospedeiro quando administradas de maneira adequada (Nacional Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, 2017; Venkatesan *et al.*, 2023).

Figura 18 – Mecanismo de ação das sulfonamidas sobre a enzima dihidropteroato sintase.



Fonte: traduzido de Venkatesan *et al.*, 2023; Yun *et al.*, 2012

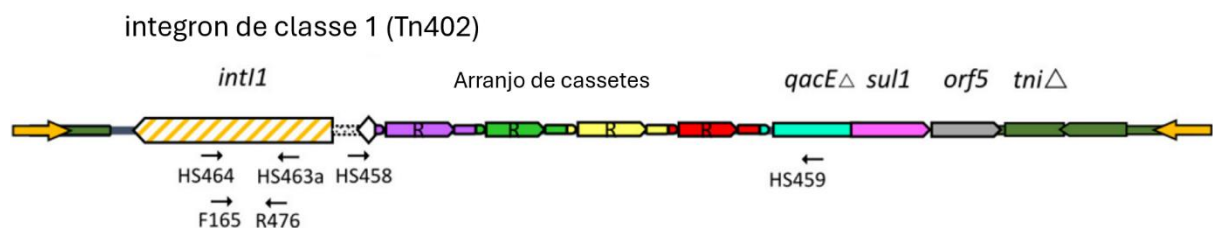
Legenda: (A) estrutura mostra a DHPS bacteriana em complexo com o substrato DHP-STZ (derivado da reação entre a enzima e a sulfatiazol); átomos em amarelo – molécula da sulfonamida, que imita o ácido p-aminobenzoico (PABA); linhas pontilhadas em vermelho – representam pontes de hidrogênio entre a sulfonamida e os resíduos da enzima (como R68, T67, P69, N120, D184), que estabilizam o complexo inibitório; (B) esquema da via biossintética do ácido fólico bacteriano; DHPS – *Dihidropteroato sintetase*; DHP⁺ – *Intermediário carbocátionico de diidropterina*; PP – *Pirofosfato inorgânico*; 6-HMP – *6-hidroximetilpterina*.

A RAM às sulfonamidas ocorre por mutações no gene *folP*, que codifica a enzima DHPS e principalmente pela aquisição de genes alternativos à DHPS, conhecidos como genes *sul*. Os produtos enzimáticos desses genes apresentam menor afinidade pelas sulfonamidas, preservando a ligação natural ao PABA (Bala *et al.*, 2023; Shindoh *et al.*, 2023).

Atualmente, são descritas quatro variantes gênicas, *sul1*, *sul2*, *sul3* e *sul4*, sendo as três primeiras as mais prevalentes, localizadas tanto em cromossomos quanto em plasmídeos conjugativos. As enzimas codificadas por esses genes apresentam regiões de ligação ao PABA remodeladas, incluindo um resíduo adicional de fenilalanina que impede o acoplamento da sulfonamida ao sítio ativo, sem afetar a ligação natural do PABA. Dessa forma, as bactérias resistentes mantêm a síntese de folato funcional, neutralizando a ação do antibiótico (Hassanein, 2019; Jiang *et al.*, 2024).

Os genes *sul1* e *sul2* são frequentemente encontrados em aglomerados gênicos associados à integrase de integron de classe 1 (*IntI1*) (Figura 19), o que favorece sua transferência horizontal entre patógenos humanos e animais em escala global. Apesar de apresentarem estruturas conservadas, as sequências nucleotídicas de *sul1* e *sul2* exibem cerca de 50% de similaridade entre si. A disseminação desses genes de resistência às sulfonamidas ocorre tanto por mecanismos cromossômicos quanto por elementos genéticos móveis, via conjugação ou transformação, o que facilita a propagação da resistência e representa um desafio significativo para o controle da RAM (Bala *et al.*, 2023; Hassanein, 2019; Jiang *et al.*, 2024; Shindoh *et al.*, 2023).

Figura 19 – Estrutura do íntegron de classe 1 (Tn402) contendo o gene de resistência às sulfonamidas *sul1*.



Fonte: traduzido de Waldron; Gillings, 2015.

Legenda: Representação esquemática do íntegron de classe 1 (Tn402). Presença do gene *sul1* na região conservada associada dos elementos genéticos móveis.

A RAM às sulfonamidas tornou-se comum, o que reduziu seu uso clínico após a introdução de classes mais potentes de antibióticos, como os β -lactâmicos. Ainda assim, continuam amplamente utilizadas, especialmente no tratamento de infecções do trato urinário, em associação com a trimetoprima e no tratamento ou prevenção de infecções parasitárias como toxoplasmose e pneumocistose (*Pneumocystis jirovecii*) e malária resistente à cloroquina (em combinação com a pirimetamina) (Nacional Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, 2017).

Devido à sua eficácia terapêutica e baixo custo, as sulfonamidas foram amplamente utilizadas na produção animal, o que exerceu forte pressão seletiva sobre as populações bacterianas, favorecendo o surgimento e a disseminação de cepas resistentes (Xie *et al.*, 2024). Entre elas, cepas de *E. coli* resistentes às sulfonamidas têm sido frequentemente detectadas em animais de produção, representando potencial via de transferência de resistência para os seres humanos, por meio do consumo de alimentos de origem animal e da exposição ambiental (Suo *et al.*, 2022).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho teve como objetivo caracterizar os perfis fenotípico e genotípico de resistência antimicrobiana em 104 isolados de *Escherichia coli* obtidos a partir de 22 amostras de queijos Minas Frescal de fabricação artesanal comercializados nas feiras permanentes do Distrito Federal.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar a confirmação genética das cepas de *E. coli* por meio da técnica de reação de cadeia de polimerase (PCR) através dos genes *lacZB* e *uidA*;
- Pesquisar nas cepas de *E. coli* por meio da técnica PCR os genes de resistência antimicrobiana *bla_{CTX-M}*, *bla_{TEM}* e *bla_{SHV}*, associados à RAM para classe dos β-lactâmicos;
- Pesquisar nas cepas de *E. coli* por meio da PCR os genes de resistência antimicrobiana *tetA* e *tetB*, associados à RAM para classe das tetraciclinas;
- Pesquisar nas cepas de *E. coli* por meio da PCR os genes de resistência antimicrobiana *cat* e *clma*, associados à RAM para classe dos fenicóis;
- Pesquisar nas cepas de *E. coli* por meio da PCR para os genes de resistência antimicrobiana *sul1* e *sul2*, associados à RAM para classe das sulfonamidas;
- Associar a resistência genética com a resistência fenotípica das cepas de *E. coli* analisadas.

4 METODOLOGIA

Este trabalho trata-se de um estudo observacional, transversal, não randomizado com uso de amostras de queijos Minas Frescal de produção artesanal, comercializados em feiras permanentes do Distrito Federal. Por se tratar de uma continuidade do estudo desenvolvido no mestrado sobre “Qualidade microbiológica de queijos Minas Frescal comercializados no Distrito Federal e determinação da RAM de bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* isoladas desses queijos”, as informações metodológicas sobre contagem total de bactérias, determinação de coliformes, contagem de *S. aureus* e identificação de *Salmonella* spp. estão descritas detalhadamente na Dissertação de Mestrado de Rodrigues (2021).

4.1 COLETA DAS AMOSTRAS DE QUEIJO ARTESANAL MINAS FRESCAL

Um total de 22 amostras de queijo artesanal Minas Frescal foram coletadas em oito diferentes feiras permanentes do Distrito Federal, Brasil, sendo obtidas duas a três amostras de diferentes comerciantes em cada feira. As amostras foram imediatamente transportadas ao laboratório em uma caixa térmica contendo gelo, e as análises microbiológicas foram iniciadas em, no máximo, uma hora após a coleta. Todas as amostras foram analisadas em triplicata técnica, ou seja, três alíquotas foram retiradas de cada embalagem, e os resultados foram expressos em média e desvio-padrão.

4.2 ENUMERAÇÃO DE COLIFORMES TERMOTOLERANTES E ISOLAMENTO DE *Escherichia coli*

A enumeração de coliformes termotolerantes e o isolamento de *E. coli* foram realizados de acordo com os métodos descritos por Feng *et al.* (2020). Para a análise, 25 g de cada amostra foi pesada e diluída em 225 mL de água peptonada a 0,1% (p/v). O material foi homogeneizado, resultando na primeira diluição (10^{-1}) e diluições decimais subsequentes (até 10^{-3}) foram preparadas a partir dessa diluição inicial.

A determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes termotolerantes foi conduzida utilizando a técnica de fermentação em tubos múltiplos, iniciando-se

pelo teste presuntivo, no qual cada diluição da amostra foi inoculada em caldo Lauril Sulfato Triptose (HiMedia, Thane, Índia). Os tubos foram incubados a 37 °C por 24 horas. O resultado positivo foi indicado pela turbidez do caldo acompanhada de produção de gás nos tubos de Durham.

Alíquotas dos tubos positivos no teste presuntivo foram inoculadas em tubos contendo caldo *Escherichia coli* (caldo EC, Kasvi, Madrid, Espanha) para confirmação da presença de coliformes termotolerantes. Esses tubos foram incubados em banho-maria a 45 °C por 24 horas, e o resultado positivo foi novamente indicado pela turbidez e produção de gás. Os resultados foram expressos em log NMP/g.

Para o isolamento de *E. coli*, alíquotas do caldo EC foram semeadas em Ágar MacConkey (HiMedia, Thane, Índia) e as placas incubadas a 37 °C por 24 horas. Em seguida, foram isoladas seis colônias suspeitas de *E. coli* (colônias fortemente fermentadoras de lactose) de cada amostra, cada uma apresentando antibiogramas distintos, totalizando 132 cepas suspeitas.

Essas cepas suspeitas de *E. coli* foram submetidas à identificação molecular utilizando a técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR), a fim de confirmar a identidade de *E. coli*. Após a identificação genética, 104 cepas foram confirmadas como *E. coli* e o gene *uidA* não foi amplificado em 28 cepas, as quais foram descartadas.

4.3 EXTRAÇÃO DE DNA BACTERIANO DE *Escherichia coli*

As colônias bacterianas isoladas foram cultivadas em caldo Müller–Hinton (Kasvi, Madri, Espanha) por 18 a 24 horas. Em seguida, foi realizada a extração de DNA utilizando o Purelink Genomic DNA Mini Kit Invitrogen™ (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA), conforme o protocolo do fabricante para bactérias Gram-negativas.

A qualidade do DNA extraído foi avaliada por eletroforese em gel de agarose a 2% (p/v), e a concentração de DNA foi quantificada utilizando o NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, Pittsburgh, PA, EUA). Os produtos de DNA foram então diluídos em água Milli-Q até uma concentração média de 20 ng/μL.

4.4 IDENTIFICAÇÃO DE *Escherichia coli*

Para a identificação de *E. coli* foi utilizado uma associação entre os genes *lacZB* (Apêndice 1), que codifica a enzima β -galactosidase, com confirmação de que a cepa é fermentadora de lactose (Jefferson *et al.*, 1986; Pinto *et al.*, 2021), e o gene *uidA* (Apêndice 2), que codifica a enzima β -glucuronidase, um marcador característico da espécie (Molina *et al.*, 2015). As sequências dos primers estão detalhadas no Quadro 2.

Quadro 2 – Sequência dos primers e tamanho do produto amplificado para a identificação de *Escherichia coli*.

Gene	Sequência oligonucleotídica (5'-3')	Tamanho (pb)	Condições da termociclagem	Referência
<i>lacZB*</i>	F: ATGAAAGCTGGCTACAGGAAGGCC R: CACCATGCCGTGGGTTTCAATATT	876	Desnaturação inicial a 94°C por 5 min.; 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 60s; anelamento a 60°C por 60s; extensão a 72°C por 60s; 72°C por 8 min. para extensão final	Molina <i>et al.</i> , 2015
<i>uidA</i>	F: TGGTAATTACCGACGAAAACGGC R: ACGCGTGGTTACAGTCTTGCG	162	Desnaturação inicial a 95°C por 60s; 25 ciclos de desnaturação a 94°C por 60s; anelamento a 50°C por 60s; extensão a 72°C por 8 min.	Molina <i>et al.</i> , 2015

Fonte: elaboração própria.

F: forward (5'→3'); R: reverse (5'→3'); bp: pares de bases.

A amplificação dos fragmentos gênicos foi realizada utilizando os seguintes termocicladores: Life Express Thermal Cycler (modelo TC-96/G/H(b)), Swift MiniPro

Thermal Cycler (modelo SWT-MIP-0-2-1) e Life Touch Thermal Cycler (modelo TC-96/G/H(b)B). Os produtos de PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 2% (p/v) (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA, EUA), corados com brometo de etídio (Sigma-Aldrich-Merck, Darmstadt, Alemanha), sob potência de 50 V. Os resultados foram visualizados sob luz ultravioleta (UV), utilizando um marcador de peso molecular DNA ladder de 100 pb (Ludwig Biotecnologia, Porto Alegre, Brasil).

Considerando que cada par de primers testado apresenta uma estrutura específica e que a otimização da PCR, por meio do ajuste dos componentes reacionais, desempenha um papel essencial na eficiência da amplificação do DNA (New England Biolabs, 2025; Thermo Fisher Scientific, 2025), as concentrações que resultaram em melhor rendimento estão descritas no Quadro 3.

Quadro 3 – Quantidades e reagentes utilizados para a detecção de genes de confirmação das cepas de *Escherichia coli*.

Reagente	lacZB	uidA
Água MiliQ®	14,60	13,85
Tampão Taq	2,50	2,50
MgCl ₂ (mM)	1,25	1,25
dNTP (mM)	1,25	2,00
Oligo F (µM)	0,50	0,50
Oligo R (µM)	0,50	0,50
Taq DNA pol (U/µL)	0,40	0,40
DNA molde	0,80	0,80

Fonte: elaboração própria.

Legenda: MgCl₂: Cloreto de magnésio; dNTP: trifosfatos desoxinucleotídeos de adenina, citosina, guanina, timina; oligo *F*: oligo forward; oligo *R*: oligo reverse; mM: milimolar; µM: micromolar; U/µL: unidade de massa atômica por microlitro; ng: Nanograma; µL: microlitro; pmol/µL: picomolar por microlitro; concentração final dos reagentes para todas as reações foi de Água MiliQ® q.s.p 25 µL; Tampão Taq 10x; MgCl₂ (mM) 50 mM; dNTP (mM) 2,50; Oligo F (µM) 10 pmol/µL; Oligo R (µM) 10 pmol/µL; Taq DNA pol (U/µL) 5 U/ µL; DNA molde 4,00 ng.

4.5 PERFIL DE SUSCETIBILIDADE ANTIMICROBIANA DE *Escherichia coli*

O teste de suscetibilidade antimicrobiana das cepas de *E. coli* foi realizado utilizando o método padrão de difusão em disco de Kirby–Bauer (CLSI, 2024). O

inóculo bacteriano foi preparado a partir de uma suspensão direta do crescimento microbiano em caldo Mueller–Hinton, ajustado a uma turbidez equivalente ao padrão 0,5 de McFarland. O inóculo foi distribuído uniformemente sobre a superfície de uma placa de ágar Mueller–Hinton utilizando um swab estéril. Após a secagem do inóculo, foram aplicados os discos contendo os agentes antimicrobianos. Os resultados foram obtidos após 24 horas de incubação a 37 °C, medindo-se os diâmetros das zonas de inibição em milímetros. Os antimicrobianos utilizados e os valores de referência para interpretação das zonas de inibição estão detalhados no Quadro 4. As cepas de *E. coli* que apresentaram resistência a três ou mais agentes antimicrobianos de diferentes classes foram classificadas como multirresistentes (MDR).

Quadro 4 – Antimicrobianos, concentrações utilizadas e valores de referência para a interpretação das zonas de inibição no teste de suscetibilidade antimicrobiana de *Escherichia coli*.

Antimicrobiano	Concentração	Classe	Sensível (mm)	Intermediário (mm)	Resistente (mm)
*Amoxicilina (AMC)	20 +10 µg	β-lactâmico / Penicilina	≤13	14-17	≥ 18
Cefotaxima (CTX)	30 µg	β-lactâmico / Cefalosporina	≤ 22	23-25	≥ 26
Ceftazidima (CAZ)	30 µg	β-lactâmico / Cefalosporina	≤ 17	18-20	≥ 21
Ciprofloxacina (CIP)	5 µg	Quinolona	≤ 21	22-25	≥ 26
Cloranfenicol (CLO)	30 µg	Fenicol	≤ 12	13-17	≥ 18
Gentamicina (GEN)	10 µg	Aminoglicosídeo	≤ 12	13-14	≥ 15
Imipenem (IMP)	10 µg	β-lactâmico / Carbapenêmico	≤ 19	20-22	≥ 23
Sulfonamida (SUL)	300 µg	Sulfonamida	≤13	14-17	≥ 18
Tetraciclina (TET)	30 µg	Tetraciclina	≤ 22	23-25	≥ 26

Fonte: adaptado de CLSI, 2024.

Legenda: *Amoxicilina com Ácido Clavulânico; mm: milímetros; µg: micrograma; β: beta.

4.6 DETECÇÃO DOS GENES DE RESISTÊNCIA EM *Escherichia coli*

A amplificação de fragmentos de genes foi realizada utilizando o termociclador Life Express Thermal Cycler (modelo TC-98/G/H(b), BIOER, China). As concentrações que resultaram em melhor rendimento estão descritas no Quadro 5 (Anexos 3 ao 11). Todas as reações de PCR foram conduzidas em um volume final de 25 μ L.

Quadro 5 – Quantidades e reagentes utilizados para a detecção de genes de resistência das cepas de *Escherichia coli*.

Reagente	<i>bla</i> _{CTX-M}	<i>bla</i> _{TEM}	<i>bla</i> _{SHV}	<i>tetA</i>	<i>tetB</i>	<i>cat</i>	<i>clm</i>	<i>sul1</i>	<i>sul2</i>
Água MiliQ®	13,35	13,85	15,22	13,85	13,85	13,85	13,35	13,85	15,22
Tampão Taq	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50
MgCl ₂ (mM)	0,75	1,25	0,38	1,25	1,25	1,25	0,75	1,25	0,38
dNTP (mM)	2,00	2,00	1,50	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	1,50
Oligo F (μ M)	1,00	0,50	0,60	0,50	0,50	0,50	1,00	0,50	0,60
Oligo R (μ M)	1,00	0,50	0,60	0,50	0,50	0,50	1,00	0,50	0,60
Taq DNA pol (U/ μ L)	0,40	0,40	0,20	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,20
DNA molde	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80

Fonte: elaboração própria.

Legenda: MgCl₂: Cloreto de magnésio; dNTP: trifosfatos desoxinucleotídeos de adenina, citosina, guanina, timina; oligo *F*: oligo forward; oligo *R*: oligo reverse; mM: milimolar; μ M: micromolar; U/ μ L: unidade de massa atômica por microlitro; ng: Nanograma; μ L: microlitro; pmol/ μ L: picomolar por microlitro; concentração final dos reagentes para todas as reações foi de Água MiliQ® q.s.p 25 μ L; Tampão Taq 10x; MgCl₂ (mM) 50 mM; dNTP (mM) 2,50; Oligo F (μ M) 10 pmol/ μ L; Oligo R (μ M) 10 pmol/ μ L; Taq DNA pol (U/ μ L) 5 U/ μ L; DNA molde 4,00 ng.

4.7 PRIMERS UTILIZADOS E CONDIÇÕES DA REAÇÃO EM CADEIA DE POLIMERASE PARA A DETECÇÃO DE GENES DE RESISTÊNCIA DAS CEPAS DE *Escherichia coli*

As amplificações genéticas foram realizadas considerando os parâmetros individuais para os ciclos de desnaturação, anelamento e extensão de cada primer. Os primers utilizados para a investigação dos genes de RAM e as condições da PCR estão descritos no Quadro 6.

Quadro 6 – Desenho dos *primers* e condições da termociclagem da reação em cadeia de polimerase para a detecção de genes de resistência das cepas de *Escherichia coli*.

Gene	Sequência oligonucleotídica (5'-3')	Tamanho (pb)	Condições da termociclagem	Referência
<i>bla_{CTX-M}</i>	F: ATGTGCAGYACCAGTAARGTKATGGC R: TGGGTRAARTARGTSACCAGAAYCAGCGG	592	Desnaturação inicial a 94°C por 60s; 36 ciclos de desnaturação a 94°C por 30s; anelamento a 58°C por 60s; extensão a 72°C por 60s; 72°C por 10 min. para extensão final	Boyd <i>et al.</i> , 2004.
<i>bla_{TEM}</i>	F: TTGGGTGCACGAGTGGGTTA R: TAATTGTTGCCGGGAAGCTA	506	Desnaturação inicial a 95°C por 3min.; 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 60s; anelamento a 55°C por 60s; extensão a 72°C por 1s; 72°C por 7 min. para extensão final	Gundran <i>et al.</i> , 2019.
<i>bla_{SHV}</i>	F: TCGGGCCGCGTAGGCATGAT R: AGCAGGGCGACAATCCCGCG	628	Desnaturação inicial a 95°C por 3min.; 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 60s; anelamento a 55°C por 60s; extensão a 72°C por 1s; 72°C por 7 min. para extensão final	Gundran <i>et al.</i> , 2019
<i>tetA</i>	F: GGCGGTCTTCTTCATCATGC R: CGGCAGGCAGAGCAAGTAGA	502	Desnaturação inicial a 94°C por 60s; 30 ciclos de desnaturação a 95°C por 60s; anelamento a 55°C por 60s; extensão a 72°C por 60s; 72°C por 8 min. para extensão final	Belaynehe <i>et al.</i> , 2018
<i>tetB</i>	F: TTGGTTAGGGGCAAGTTTTG R: GTAATGGGCCAATAACACCG	659	Desnaturação inicial a 94°C por 60s; 30 ciclos de desnaturação a 95°C por 30s; anelamento a 55°C por 30s; extensão a 72°C por 60s; 72°C por 8 min. para extensão final	Ahmed <i>et al.</i> , 2010
<i>cat</i>	F: AGTTGCTCAATGTACCTATAACC R: TTGTAATTCATTAAGCATTCTGCC	547	Desnaturação inicial a 95°C por 5 min.; 30 ciclos de desnaturação a 94°C por 30s; anelamento a 50°C por 30s;	Van <i>et al.</i> , 2008

Gene	Sequência oligonucleotídica (5'-3')	Tamanho (pb)	Condições da termociclagem	Referência
<i>clmA</i>			extensão a 72°C por 1s; 72°C por 10 min. para extensão final	
	F: CCGCCACGGTGTGTTGTTATC R: CACCTTGCTGCCATCATTAG	698	Desnaturação inicial a 95°C por 5 min.; 30 ciclos de desnaturação a 94°C por 30s; anelamento a 50°C por 30s; extensão a 72°C por 1s; 72°C por 10 min. para extensão final	Van <i>et al.</i> , 2008
	F: CTTGATGAGAGCCGGCGGC R: GCAAGGCGAAACCCGCGCC	238	Desnaturação inicial a 94°C por 5 min; 30 ciclos de desnaturação a 94°C por 60 s; anelamento a 56°C por 60 s; extensão a 68°C por 60 s; 72°C por 10min para extensão final	Qiu <i>et al.</i> , 2019
<i>sul2</i>	F: GCGCTCAAGGCAGATGGCATT R: GCGTTTGATACCGGCACCCGT	293	Desnaturação inicial a 95°C por 10 min; 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 45 s; anelamento a 55°C por 50 s; extensão a 72°C por 50 s; 72°C por 10min para extensão final	Arabi <i>et al.</i> , 2015

Fonte: elaboração própria.

Legenda: F: Forward, R: Reverse, pb: pares de base; s: segundos; min.: minutos

4.8 ELETROFORESE EM GEL DE AGAROSE

O produto amplificado pela PCR (8 µL) foi homogeneizado com 2 µL de azul de bromofenol Dinâmica® (Lote 88565 – Código 1010) e submetido à separação pela técnica de eletroforese em gel de agarose à 2% (p/v) (Invitrogen Life Technologies, EUA), sob tensão constante de 50 V. Os fragmentos de DNA foram corados com brometo de etídio (EtBr) e visualizados sob iluminação UV no transiluminador Kasvi UV 302NM. Para a classificação do peso molecular foi utilizado o marcador de 100 pb (Ludwig Biotecnologia Ltda, Brasil) como padrão de referência.

4.9 ASSOCIAÇÃO ENTRE A CLASSE ANTIMICROBIANA E OS GENES DE RESISTÊNCIA TESTADOS NAS CEPAS DE *Escherichia coli*

Para cada gene de resistência avaliado neste estudo, foi estabelecida uma correlação direta com o antimicrobiano correspondente testado no antibiograma. Essa abordagem possibilitou relacionar os resultados fenotípicos de resistência obtidos previamente às características genotípicas investigadas, permitindo uma análise integrada entre o perfil de suscetibilidade antimicrobiana e a presença de determinantes moleculares de resistência (Petrin *et al.*, 2023).

No Quadro 7 estão descritas as classes de antimicrobianos avaliadas e os genes-alvo testados pela técnica de PCR em cepas de *E. coli*. Cada classe antimicrobiana foi representada por, no mínimo, dois genes específicos associados a mecanismos conhecidos de RAM.

Quadro 7 – Antimicrobianos e genes de resistência antimicrobiana testados para as cepas de *Escherichia coli*.

Antimicrobiano	Classe	Gene de resistência
Amoxicilina com Ácido Clavulânico	β -lactâmico/Penicilina	
Ceftazidima	β -lactâmico/Cefalosporina	<i>bla_{CTX-M}</i>
Cefotaxima	β -lactâmico/Cefalosporina	<i>bla_{TEM}</i>
Imipenem	β -lactâmico/Carbapenêmico	<i>bla_{SHV}</i>
Tetraciclina	Tetraciclina	<i>tetA</i> <i>tetB</i>
Cloranfenicol	Fenicol	<i>cat</i> <i>Clma</i>
Sulfonamida	Sulfonamida	<i>sul1</i> <i>sul2</i>

Autoria: elaboração própria.

4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para investigar possíveis associações entre as categorias de resistência fenotípica e genotípica entre feiras permanentes e amostras de queijos foram realizados testes de independência qui-quadrado nas principais categorias. O V de Cramér foi calculado para estimar os tamanhos de efeito e os valores de *p* foram ajustados pelo procedimento de Benjamini–Hochberg.

As análises estatísticas foram conduzidas em Python (versão 3.11; Python Software Foundation, Wilmington, DE, EUA).

4.11 UTILIZAÇÃO DE INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL PARA BUSCAR ARTIGOS

A inteligência artificial ChatGPT (versão Plus, GPT-5) foi utilizada como ferramenta auxiliar para otimização e sistematização da busca bibliográfica de artigos científicos relevantes ao tema da pesquisa. Para essa finalidade, foi empregado um prompt estruturado, orientado por critérios explícitos de qualidade, atualidade e relevância científica.

O prompt utilizado foi:

*“Buscar artigos científicos internacionais, publicados no máximo nos últimos cinco anos (com preferência para o ano de 2025), que não sejam provenientes de periódicos predatórios. Considerar exclusivamente artigos cujos periódicos possuam classificação na Plataforma Sucupira (<https://sucupira.capes.gov.br/>) como critério de credibilidade. Os estudos devem abordar obrigatoriamente *Escherichia coli* e/ou queijos, incluindo queijos artesanais e/ou queijo Minas Frescal. As sugestões devem ser acompanhadas do respectivo link de acesso ao artigo.”*

Os artigos inicialmente identificados por meio dessa estratégia foram, posteriormente, validados e aprofundados por meio da plataforma Connected Papers (<https://www.connectedpapers.com/auth>), com o objetivo de identificar trabalhos relacionados, ampliando a compreensão do estudo e garantindo maior robustez à revisão bibliográfica.

Essa abordagem combinada permitiu uma busca direcionada, transparente e reproduzível, aliando o uso de inteligência artificial à verificação crítica da qualidade editorial dos periódicos e à exploração sistemática das redes de citações científicas.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 IDENTIFICAÇÃO DA ESPÉCIE *Escherichia coli* (GENES *lacZB* e *uidA*)

Foram isoladas 132 cepas com características morfotinturiais da espécie *E. coli* das 22 amostras de queijos Minas Frescal de produção artesanal. Após a confirmação genética por meio da identificação molecular pelos dos genes *lacZB* em associação com *uidA*, 104 cepas foram confirmadas como *E. coli*. Vale destacar que todas as cepas foram positivas para o gene *lacZB* e 21,21% (28/132) das cepas não foram positivas para o gene *uidA* e por isso foram descontinuadas das análises moleculares.

O gene *lacZB* codifica a enzima β -galactosidase, a qual é responsável por catalisar a hidrólise da lactose em glicose e galactose no operon *lac*²⁶ da *E. coli* (Jefferson *et al.*, 1986; Pinto *et al.*, 2021). Como a espécie *E. coli* é reconhecida por sua capacidade de fermentar lactose e produzir gás (Molina *et al.*, 2015), a presença do gene *lacZB* na análise molecular permite a detecção da atividade natural da β -galactosidase, indicando que a cepa é degradadora de lactose (*lac*⁺). Além disso, essa enzima demonstrou ser altamente expressa em cepas de *E. coli*, servindo como um marcador molecular funcional para identificar comunidades microbianas (Shen; Shu, 2025).

Já a gene *uidA* é rotineiramente utilizado para confirmar a espécie *E. coli* visto sua característica espécie-específico, apresentando uma sequência de DNA altamente conservada dentro da espécie *E. coli* (Alsanjary; Sheet, 2022). A enzima intracelular β -D-glucuronidase que é codificada pelo gene *uidA*, é usada para identificar especificamente *E. coli* (fermentadora de lactose) e *Shigella* (não fermentadora de lactose). Isso se dá porque essa enzima é característica dessas espécies estando presente em praticamente em todas as cepas de *E. coli*, mas ausente em outras espécies fermentadoras de lactose do grupo dos coliformes (Lehniger *et al.*, 2021). A β -D-glucuronidase é uma hidrolase intracelular que catalisa a hidrólise dos β -D-glicuronídeos, liberando glicona que é usada como fonte de carbono pela bactéria (Candeliere *et al.*, 2022).

²⁶ Sistema de regulação génica onde um conjunto de genes estruturais e elementos regulatórios permitem à *Escherichia coli* utilizar lactose como fonte de energia quando a glicose está ausente.

Considerando que os genes *lacZ* e *uidA* são evolutivamente relacionados e codificam enzimas capazes de hidrolisar substratos glicosídicos semelhantes, a utilização combinada de *lacZB* e *uidA* na identificação molecular de *E. coli* aumenta a confiabilidade da detecção. Enquanto *lacZB* confirma o fenótipo lactose-fermentador, o gene *uidA*, altamente conservado e espécie-específico, confirma de forma precisa a identidade de *E. coli* (Abou-Dobara *et al.*, 2022; Molina *et al.*, 2015; Walker *et al.*, 2017; Zimoń *et al.*, 2024).

Outros estudos na literatura também utilizaram o gene *uidA* para identificação de *E. coli* em leite e derivados do leite. Zarei Ahmady *et al.* (2023) após analisarem amostras de leite de vaca cru e manteiga não pasteurizadas recolhidas em laticínios em Ahvaz, sudoeste do Irã, isolaram 76 cepas suspeitas de serem *E. coli*. Os autores detectaram o gene *uidA* em 65,90% (50/76) das cepas, confirmando a identificação de *E. coli*. De forma semelhante, Alsanjary e Sheet (2022) analisaram 400 bactérias recolhidas de rebanhos leiteiros em Nineveh, Iraque, e observaram que 35,00% (140/400) das cepas testaram positivo para *E. coli* por meio da identificação do gene *uidA*.

5.2 RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS β -LACTÂMICOS E IDENTIFICAÇÃO DOS GENES *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM} e *bla*_{SHV} NAS CEPAS DE *Escherichia coli*

Na Tabela 1 estão descritos os valores referentes ao perfil de RAM das 104 cepas de *E. coli* frente aos antibióticos β -lactâmicos. A amoxicilina com ácido clavulânico foi o fármaco que apresentou maior número de cepas de *E. coli* resistentes (19,23%, 20/104) e perfil somado de cepas de *E. coli* com resistência e resistência intermediária (23,08%, 24/104). Já o imipenem foi o fármaco que apresentou menor número de cepas de *E. coli* resistentes (2,88%, 3/104) e perfil somado de cepas de *E. coli* com resistência e resistência intermediária (6,73%, 7/104).

Tabela 1 – Perfil de resistência antimicrobiana das cepas de *Escherichia coli* frente aos antibióticos da classe dos β -lactâmicos.

Antimicrobiano	Resistência n (%)
Resistência a Amoxicilina‡	20 (19,23)
Resistência somada a resistencia intermediária*	24 (23,08)
Resistência a Cefotaxima	14 (13,46)
Resistência somada a resistencia intermediária*	21 (20,19)
Resistência a Ceftadizima	11 (10,58)
Resistência somada a resistencia intermediária*	17 (16,35)
Resistência ao Imipenem	3 (2,88)
Resistência somada a resistencia intermediária*	7 (6,73)
Perfil Multirresistente†	19 (18,26)

Fonte: elaboração própria.

Legenda: *soma dos resultados das cepas de *E. coli* que apresentaram resistência e resistência intermediária (CLSI, 2024); †) cepas de *E. coli* com resistência aos β -lactâmicos e duas classes distintas de antibióticos ou mais; ‡) amoxicilina com ácido clavulânico. Os resultados de porcentagem foram calculados em relação ao total de 104 cepas de *E. coli*.

Os estudos na literatura reportam com frequência a presença de cepas de *E. coli* isoladas de leite e queijos com resistência aos antibióticos da classe dos β -lactâmicos. Ribeiro *et al.* (2024) analisaram 106 amostras colhidas das mãos dos ordenhadores, baldes de ordenha, leite cru, queijos artesanais de leite cru e desnatadeiras em cinco pequenas propriedades leiteiras que produzem queijos frescos utilizando leite cru, localizadas no nordeste do Estado de São Paulo, Brasil. Após isolarem 303 cepas de *E. coli*, os autores mencionaram que cinco isolados eram cepas produtoras de ESBL/AmpC.

Loeza-Lara *et al.* (2023) analisaram 100 amostras de queijo fresco coletadas de 10 pontos de venda localizados em dois mercados municipais de Michoacán, México e isolaram 60 cepas de *E. coli* ESBL. Dessas 60 cepas de *E. coli* ESBL, os autores observaram 100% de resistência a cefotaxima e 68,3% (41/60) de resistência a ceftazidima e todos os isolados eram multirresistentes. Ainda encontraram resultados semelhantes com o presente estudo em relação ao imipenem, com 98,3% (59/60) das cepas de *E. coli* sensíveis.

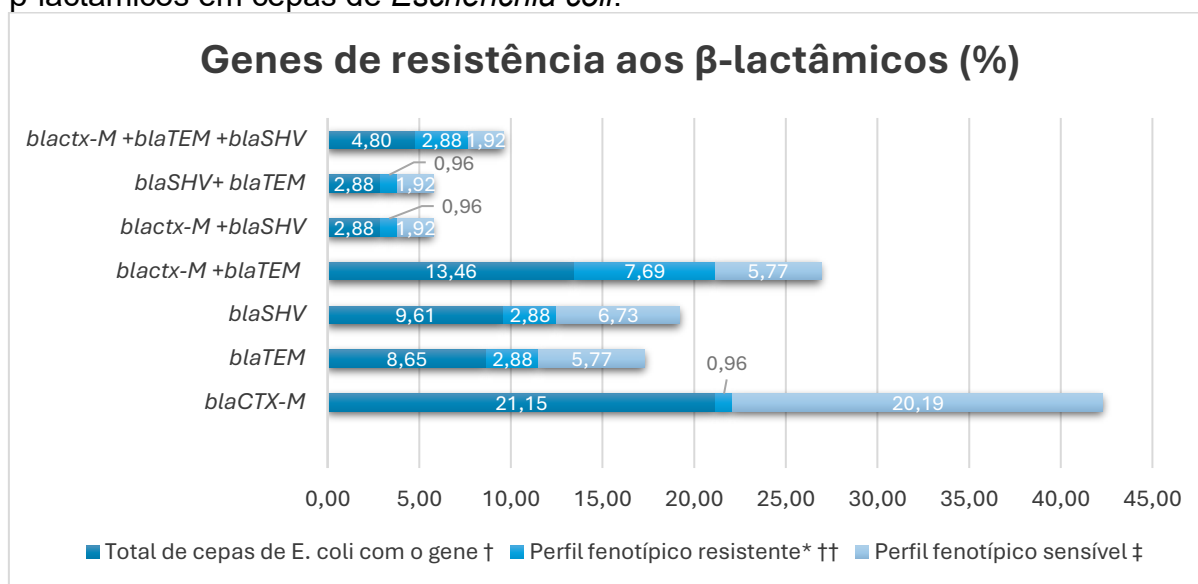
Embora a resistência ao imipenem ainda apresente baixa frequência em cepas de *E. coli* isoladas de alimentos, no presente estudo foram observados 6,73% de isolados com perfil resistente ou intermediário. Esse achado, ainda que numericamente reduzido, é relevante, pois indica o emergente surgimento de cepas de *E. coli* com resistência a carbapenêmicos no ambiente alimentar. Considerando que os carbapenêmicos representam antibióticos de última linha para o tratamento de

infecções graves, a detecção dessas cepas em alimentos configura um importante sinal de alerta, contribuindo para a preocupação crescente com a disseminação de bactérias resistentes e para o potencial impacto na segurança e eficácia das terapias antimicrobianas disponíveis na prática clínica (Hoang *et al.*, 2025).

Das 104 cepas de *E. coli* analisadas, 55,77% (58/104) carregavam ao menos um gene *bla*, associado à resistência a antibióticos β-lactâmicos. No entanto, apenas 23,99% (13/58) das cepas apresentaram resistência fenotípica aos β-lactâmicos avaliados (Tabela 1). Dessa forma, a maior parte dos isolados positivos para genes *bla*, 43,26% (45/104), exibiu perfil sensível aos antibióticos β-lactâmicos no antibiograma. Apenas 19,23% (20/104) das cepas de *E. coli* analisadas foram simultaneamente positivas para genes *bla* e apresentaram resistência fenotípica.

No Gráfico 1 é apresentado a frequência relativa dos genes de resistência aos β-lactâmicos nas cepas de *E. coli*, bem como a relação entre sua presença e o perfil fenotípico observado. O gene de resistência da família *bla* mais frequente foi o *bla*_{CTX-M} identificado em 21,15% (22/104) dos isolados. Entre as combinações de genes detectadas simultaneamente, a associação *bla*_{CTX-M} + *bla*_{TEM} foi a mais frequente, ocorrendo em 13,46% (14/104) das cepas. Em seguida, observou-se a presença conjunta de *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM} e *bla*_{SHV} em 4,81% (5/104) dos isolados, evidenciando a circulação de cepas portadoras de múltiplos mecanismos genéticos de resistência.

Gráfico 1 – Frequência relativa da ocorrência dos genes de resistência aos antibióticos β -lactâmicos em cepas de *Escherichia coli*.



Fonte: elaboração própria.

Legenda: *) soma das cepas que apresentaram resistência e resistência intermediária (CLSI, 2024). †) total de cepas de *E. coli* com a presença do gene *bla*: 55,77% (58/104); ††) total de cepas com resistência e resistência intermediária aos β -lactâmicos que também apresentaram genes de resistência *bla*: 19,23 % (20/104); ‡) total de cepas sensíveis ao β -lactâmicos, mas que apresentaram genes de resistência *bla*: 43,26% (45/104).

Na literatura estudos em todo o mundo têm relatado uma alta prevalência de genes de resistência a antibióticos β -lactâmicos em cepas de *E. coli* isoladas de leite e produtos lácteos. Shoaib *et al.* (2023) isolaram 263 cepas de *E. coli* resistentes à cefotaxima de um ambiente de fazenda leiteira em Xinjiang, na China, onde recolheram amostras de fezes, chorume, água, leite e solo e observaram que 56,27% (148/263) das cepas de *E. coli* carregavam o gene *blaTEM*, 25,85% (68/263) carregavam o gene *blaOXA* e 22,43% (59/263) carregavam o gene *blaCTX-M*.

Eldesoukey *et al.* (2022) examinaram um total de 240 amostras de fezes de bezerros diarreicos, de leite e de trabalhadores para identificar a prevalência de cepas de EPEC em três fazendas leiteiras no Egito. Após isolarem 28 cepas de EPEC, observaram que 17,90% (5/28) carregavam o gene *blaSHV*, 10,70% (3/28) foram positivas para ambos os genes *blaTEM* e *blaCTX-M*, 7,10% (2/28) carregavam *blaTEM* e 3,60% (1/28) cepas carregavam o gene *blaCTX-M*. Os autores ainda mostraram que houve uma concordância entre a aquisição de genes de resistência com a expressão de resistência fenotípica aos antibióticos correspondentes β -lactâmicos em todos os isolados de EPEC.

Tabaran *et al.* (2017) analisaram 200 amostras compostas por leite cru e queijo não pasteurizado, para identificação de cepas patogênicas de *E. coli* na Romênia. Após isolarem 27 espécies de *E. coli* verotoxigênica e ETEC, identificaram que 33,3% (9/27) dessas cepas carregavam o gene *bla*_{TEM}. Por outro lado, nenhuma das amostras testadas foram positivas para o gene *bla*_{SHV}.

As bactérias Gram-negativas estão entre as principais causas de resistência a antimicrobianos β -lactâmicos devido a produção das enzimas ESBL. Estas bactérias são geralmente multirresistentes, o que aumenta consideravelmente o risco de mortalidade e prolonga o tempo de internação hospitalar, comprometendo a eficácia dos antimicrobianos comumente utilizados no tratamento de infecções bacterianas (Pearce *et al.*, 2023).

Cepas produtoras de ESBL que carregam os genes *bla*_{TEM} e *bla*_{SHV} frequentemente exibem co-resistência aos aminoglicosídeos e tetraciclinas, sendo que os determinantes genéticos não conferem resistência apenas aos β -lactâmicos, mas também a outras classes de antimicrobianos como as sulfonamidas, quinolonas e cloranfenicol refletindo a mobilidade e a capacidade desses elementos de se acumularem em plasmídeos multirresistentes (Lobe *et al.*, 2025; Pires *et al.*, 2019).

A aquisição de RAM fenotípica e genotípica em *E. coli* pode estar ligada a fatores ecológicos como as condições ambientais em que os microrganismos estão expostos, fatores do hospedeiro como em caso de terapia antibiótica prévia, fatores genéticos relacionados com a virulência ou elementos genéticos móveis ou fatores técnicos que são influenciados pelas técnicas de amostragem e detecção que foram realizadas (Eldesoukey *et al.*, 2022).

Um fator que pode explicar a identificação de genes de resistência a determinado antibiótico em cepas de *E. coli* com sensibilidade fenotípica é a presença de “genes silenciosos” ou não expressos fenotipicamente. Os genes silenciosos são descritos como sequências de DNA que geralmente estão inativas ou são expressas em níveis muito baixos, mas que podem ser ativadas por mutações, recombinação ou quando ocorre a transferência para um novo hospedeiro. Além disso, há o conceito de RAM adquirida transitoriamente silenciosa (*t*saAMR), que descreve a presença de genes de resistência em isolados cujo fenótipo ainda se encontra dentro da distribuição de susceptibilidade típica das linhagens do tipo selvagem (wild-type), ou seja, cepas que nunca foram expostas a antibióticos e que não apresentam seleção

para expressão do gene. Nesses casos, embora o determinante genético esteja presente, o nível de resistência permanece abaixo do ponto de corte clínico, fazendo com que o isolado seja classificado como sensível no teste fenotípico (Stasiak *et al.*, 2021).

Dessa forma o genótipo resistente nem sempre se traduz imediatamente em um fenótipo não suscetível (Wagner *et al.*, 2023). Alguns genes podem parecer silenciosos em teste controlados como em laboratórios, mas são expressos em ambientes naturais. Além disso, os genes silenciosos podem se disseminar através da transferência genética horizontal. Isso reforça a importância de considerar não apenas as cepas com resistência fenotípica detectável, mas também aquelas fenotipicamente suscetíveis, que podem atuar como reservatórios genéticos com potencial de transmitir RAM em condições favoráveis (Deekshit; Srikumar, 2022; Wolny-Koładka; Lenart-Boroń, 2016; Wu *et al.*, 2025).

Por fim, a exposição dos animais produtores de alimentos, sobretudo o gado leiteiro, aos antibióticos da classe dos β -lactâmicos fornece uma pressão seletiva que favorece o surgimento e a disseminação de genes de resistência em cepas de *E. coli*. Além do leite, o esterco do gado também pode atuar como um repositório de genes de RAM, permitindo sua disseminação para o solo, corpos d'água e ecossistemas próximos. A disseminação dos genes de RAM permite que se espalhem para outras bactérias, incluindo patógenos que vivem em hospedeiros humanos (Ansharieta *et al.*, 2020; Elsharkawy *et al.*, 2024).

5.3 RESISTÊNCIA AO ANTIMICROBIANO TETRACICLINA E IDENTIFICAÇÃO DOS GENES *tetA* e *tetB* NAS CEPAS DE *Escherichia coli*

Na Tabela 2 estão descritos os valores referentes ao perfil de RAM das 104 cepas de *E. coli* frente a tetraciclina, sendo que 38,46% (40/104) das cepas apresentaram resistência a tetraciclina.

Tabela 2 – Perfil de resistência antimicrobiana das cepas de *Escherichia coli* frente a tetraciclina.

Antimicrobiano	Resistente n (%)
Resistência a Tetraciclina	40 (38,46)
Resistência somada a resistência intermediária*	43 (41,34)
Perfil Multirresistente†	25 (24,03)

Fonte: elaboração própria.

Legenda: *) soma dos resultados das cepas que apresentaram resistência e resistência intermediária (CLSI, 2024); †) cepas com resistência a tetraciclina e duas classes distintas de antibióticos ou mais. Os resultados de porcentagem foram calculados em relação ao total de 104 cepas de *E. coli*.

Na literatura estudos em todo o mundo têm relatado uma alta prevalência de genes de resistência a tetraciclina em cepas de *E. coli* isoladas de leite e produtos lácteos. Hassanien e Shaker (2020) analisaram 150 amostras de produtos lácteos como queijos e iogurtes, coletados em Sohag, Egito. Os autores encontraram cepas patogênicas de *E. coli* O157:H7 em 11,33% (17/150) das amostras, sendo que a maior frequência de contaminação ocorreu em amostras de queijo. As cepas de *E. coli* O157:H7 apresentaram alta resistência à tetraciclina, com uma faixa de 88,23% (15/17).

Joubrane *et al.* (2022) analisaram 195 amostras de leite cru coletadas no Líbano. Após isolarem 100 cepas de *E. coli*, os autores verificaram que 41,00% (41/100) das cepas apresentaram resistência ao antibiótico tetraciclina. Além disso, 20% (20/100) das cepas apresentaram perfil multirresistente. Os autores confirmaram que o alto perfil de resistência à classe das tetraciclinas indicou o uso indiscriminado desse fármaco no rebanho bovino.

Na pesquisa de De Campos *et al.* (2018) foram analisadas um total de 147 amostras de queijo Minas Frescal feito com leite de vaca não pasteurizado coletados no Brasil, nos estados do Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul e Bahia. Os autores isolaram 39 cepas de *E. coli* sendo que 7,7% (3/39) foram identificadas como *E. coli* enteropatogênica atípica (aEPEC) e ExPEC. Dentre os antimicrobianos testados, a maior taxa de resistência encontrada foi para a tetraciclina, com 25,64% (10/39).

As tetraciclinas estão entre os antimicrobianos mais amplamente utilizados na produção animal. Em 2020, esse grupo foi o antibiótico mais consumido globalmente em animais de produção, totalizando 33.305 toneladas, com previsão de um aumento adicional de 9% até 2030. Esse volume de uso supera o de outras classes

importantes, como penicilinas, macrolídeos, sulfonamidas e quinolonas (Mulchandani *et al.*, 2023).

Em Uganda, um estudo nacional sobre consumo de antimicrobianos veterinários mostrou que as tetraciclinas se destacaram como a classe mais utilizada, correspondendo a 44,80% dos antibióticos empregados na medicina veterinária entre 2018 e 2020. Esses dados evidenciam o papel central das tetraciclinas na pecuária intensiva do país, refletindo sua ampla disponibilidade, baixo custo e uso frequente para prevenção e tratamento de infecções em sistemas produtivos de alta demanda (Kitutu *et al.*, 2025).

A resistência a tetraciclina frequentemente ocorre inserida em perfis de multirresistência antimicrobiana (MDR), como foi observado no estudo de Martínez-Vázquez *et al.* (2021) que ao isolarem 213 cepas de *E. coli* provenientes de fezes e carcaças bovinas na cidade de Tamaulipas, no México, identificaram um perfil de multirresistência antimicrobiana em 72,76% (155/213) das cepas de *E. coli*, sendo que 69,01% (147/213) das cepas eram resistentes a tetraciclina. Os autores concluíram que produtos alimentícios de origem bovina representam potencial fonte de *E. coli* MDR, sendo um risco de exposição para o meio ambiente e para os consumidores.

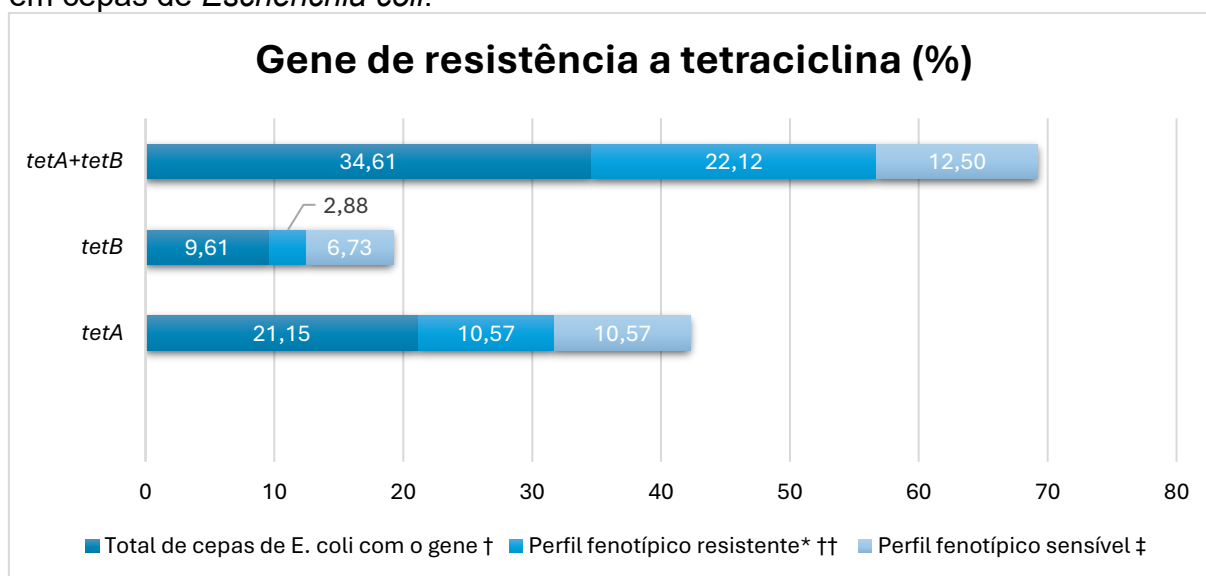
Já no estudo de Ramírez-Bayard *et al.* (2023) foram analisadas 150 amostras provenientes de fezes de gado, suínos, frangos e humanos e de água coletadas em três áreas rurais do Panamá. Após isolarem 150 cepas de *E. coli*, os autores identificaram que a multirresistência antimicrobiana esteve presente em 41,38% (48/116) das cepas de *E. coli*, sendo que a resistência a tetraciclina estava presente em todas as cepas de *E. coli* MDR.

Portanto, a resistência aos antimicrobianos (RAM) é reconhecida como um problema de Saúde Único (One Health), uma vez que os sistemas pecuário, humano e ambiental estão interligados, criando múltiplas vias para a disseminação de bactérias resistentes. O entendimento dessa perspectiva integrada é essencial para enfrentar a RAM, incluindo aquela associada ao uso de tetraciclinas (Pandey *et al.*, 2024).

No Gráfico 2 é apresentada a frequência relativa dos genes de resistência às tetraciclinas nas cepas de *E. coli*, bem como a relação entre sua detecção e o perfil fenotípico observado. Do total de cepas analisadas, 65,38% (68/104) foram positivas para genes de resistência da família *tet*. Entre essas, observou-se predominância do

gene *tetA*, identificado em 85,29% (58/68) dos isolados, enquanto *tetB* foi detectado em 67,64% (46/68). Na correlação entre os perfis fenotípico e genotípico, 38,46% (40/104) das cepas apresentaram resistência à tetraciclina no antibiograma, ao passo que 35,56% (37/104) portavam *tetA* e/ou *tetB*. Assim, 92,59% (62/68) das cepas resistentes no antibiograma possuíam pelo menos um desses genes. Além disso, 29,80% (31/104) das cepas foram fenotipicamente suscetíveis à tetraciclina, mas ainda assim apresentavam *tetA* e/ou *tetB*.

Gráfico 2 – Frequência relativa da ocorrência dos genes de resistência as tetraciclinas em cepas de *Escherichia coli*.



Fonte: elaboração própria.

Legenda: *) soma das cepas que apresentaram resistência e resistência intermediária (CLSI, 2024). †) total de cepas de *E. coli* com a presença do gene *tet*: 65,38% (68/104); ††) total de cepas com resistência e resistência intermediária a tetraciclina que também apresentaram genes de resistência *tet*: 35,56% (37/104); ‡) total de cepas sensíveis as tetraciclinas, mas que apresentaram genes de resistência *tet*: 29,80% (31/104).

A resistência à tetraciclina está amplamente disseminada em *E. coli* isolada de leite cru e queijos elaborados com leite cru. Ombarak *et al.* (2018) após avaliarem 187 amostras de leite cru e de queijos populares no Egito, isolaram 222 cepas de *E. coli*. Os autores identificaram que 27,47% das cepas (61/222) apresentaram resistência a tetraciclina. Desse total, 86,90% (53/61) portavam o gene de resistência *tetA*, 14,80% (9/61) carregavam o gene *tetB*, 1,63% (1/61) portavam o gene *tetD* e nenhuma cepa carregava o gene *tetC*. Os autores concluíram que cepas de *E. coli* que apresentam RAM estão amplamente distribuídas no ambiente de produção e processamento de

leite, podendo contribuir na disseminação da RAM para outras bactérias patogênicas e comensais.

Belaynehe *et al.* (2018) após analisarem 92 isolados de *E. coli* com resistência a tetraciclina, verificaram que todos os isolados tiveram a presença de pelo menos um gene de resistência da família *tet*. Do total de cepas analisadas, 51,10% (47/92) portavam o gene *tetA* e 44,60% (41/92) abrigavam o gene *tetB*. Os autores concluíram que o uso de tetraciclina na pecuária não apenas seleciona resistência à própria droga, mas impulsiona a disseminação da multirresistência antimicrobiana ao favorecer cepas de *E. coli* portadoras de integrons de Classe 1. Além disso, com a disseminação por transferência horizontal, as cepas de *E. coli* tornam-se reservatório móvel de genes MDR no rebanho, representando um risco importante para a cadeia alimentar e para o ambiente.

No estudo conduzido por Messele *et al.* (2019), foram analisadas 224 amostras de leite provenientes de vacas com mastite bovina em fazendas leiteiras da região central da Etiópia. Dentre essas amostras, 7,14% (16/224) apresentaram isolamento de *E. coli*. Entre as cepas identificadas, 50,00% (8/16) carregavam o gene de resistência *tetA*. Além disso, o gene *tetA* esteve presente nos dois perfis genéticos de resistência mais frequentes encontrados no estudo: 37,5% (6/16) das cepas apresentaram a combinação *cmIA* + *tetA*, enquanto 25,00% (4/16) exibiram o perfil *aac(3)* + *tetA*.

Portanto, os genes *tet* mais frequentemente identificados em animais de produção e em produtos alimentícios de origem animal são aqueles relacionados a mecanismos de efluxo, especialmente *tetA* e *tetB*. A ampla disseminação desses genes entre diferentes espécies bacterianas reforça seu papel predominante na resistência às tetraciclinas. Ademais, a detecção de genes *tet* mesmo em isolados fenotipicamente sensíveis indica que a simples presença do determinante genético não garante sua expressão ou a manifestação clínica de resistência, ressaltando a necessidade de análises fenotípicas complementares para a correta interpretação dos resultados (Vásquez-Jaramillo *et al.*, 2023).

Além dos contextos clínicos, a pecuária e a aquicultura estão sendo reconhecidas cada vez mais como importantes impulsionadoras do resistoma global (o conjunto total de genes de resistência), independentemente do sistema produtivo envolvido, seja bovino, caprino, suíno ou leiteiro. Observa-se a

predominância de famílias de genes de resistência semelhantes entre esses sistemas, sobretudo aquelas relacionadas as classes de antimicrobianos sujeitas a maior pressão seletiva, como tetraciclinas, sulfonamidas e β -lactâmicos. Vale ressaltar que os elementos genéticos móveis juntamente com co-seletores como metais pesados, desinfetantes e microplásticos, contribuem para a manutenção e disseminação de cepas MDR, mesmo na ausência da exposição direta ao antibiótico (Murray *et al.*, 2024; Piergliacomo *et al.*, 2023; Wojnarowski *et al.*, 2025).

5.4 RESISTÊNCIA AO ANTIMICROBIANO CLORANFENICOL E IDENTIFICAÇÃO DOS GENES *cat1* e *clmA* NAS CEPAS DE *Escherichia coli*

Na Tabela 3 estão descritos os valores referentes ao perfil de RAM das 104 cepas de *E. coli* frente ao cloranfenicol. Após as análises, 10,57% (11/104) das cepas apresentaram resistência ou resistência intermediária ao cloranfenicol, sendo que 9,61% (10/104) das cepas de *E. coli* foram classificadas como MDR (cepas com resistência ao cloranfenicol e duas classes distintas de antibióticos ou mais).

Tabela 3 – Perfil de resistência antimicrobiana das cepas de *Escherichia coli* frente ao cloranfenicol.

Antimicrobiano	Resistente n (%)
Cloranfenicol	8 (7,69)
Perfil resistente*	11 (10,57)
Perfil Multirresistente†	10 (9,61)
Total de cepas	104

Fonte: elaboração própria.

Legenda: *) soma dos resultados das cepas que apresentaram resistência e resistência intermediária (CLSI, 2024); †) cepas com resistência ao cloranfenicol e duas classes distintas de antibióticos ou mais. Os resultados de porcentagem foram calculados em relação ao total de 104 cepas de *E. coli*.

Alguns estudos têm avaliado a presença de resistência ao cloranfenicol em cepas de *E. coli* isoladas de amostras de leite e derivados, entretanto os isolados geralmente não exibem taxas elevadas de resistência ao cloranfenicol, resultado semelhante ao observado em nossos achados. No estudo de Yoon e Lee (2022), foram avaliados 1.160 lotes de leite de tanque a granel provenientes de 290 fazendas leiteiras na Coreia. Entre as 183 cepas de *E. coli* isoladas, 14,10% (9/64)

apresentaram resistência ao cloranfenicol. Além disso, os autores identificaram que 23,43% (15/64) dos isolados foram MDR.

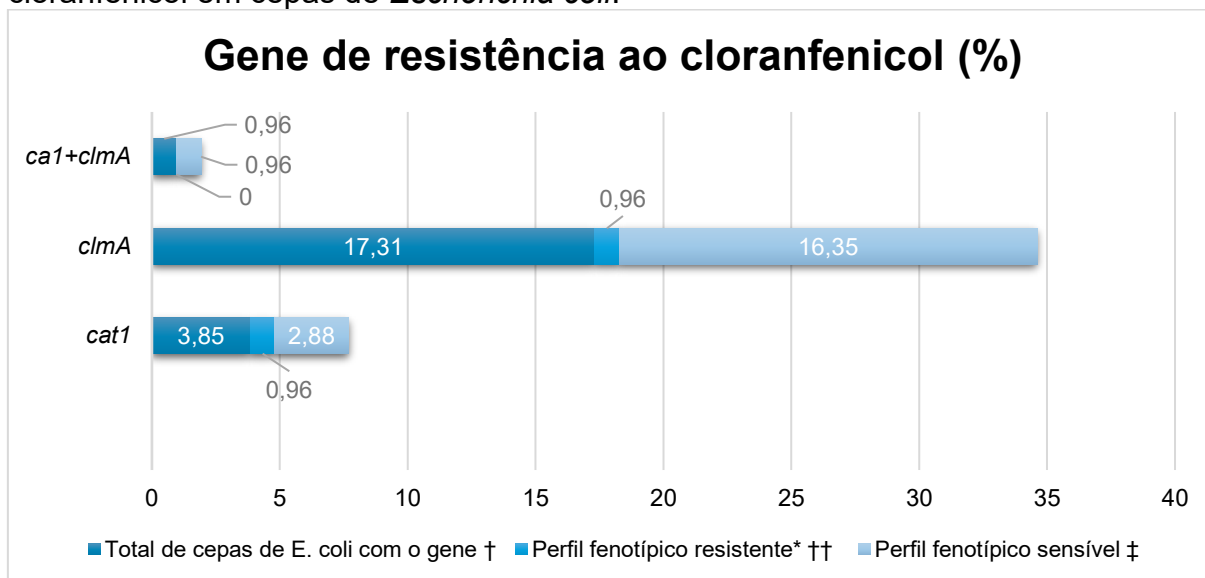
Liu *et al.* (2021) analisaram 67 isolados de *E. coli* provenientes de leite cru isolados de tanque de fazendas leiteiras do Norte da China. Os autores identificaram que 7,5% (5/67) dessas cepas foram resistentes ao cloranfenicol, permanecendo como uma das menores taxas de resistência entre os antimicrobianos testados. Os autores ainda identificaram que 19,4% (13/67) das cepas de *E. coli* foram MDR.

No estudo conduzido por Boudjerdaa e Lahouela (2022), foram analisadas 300 amostras de carne de frango, carne bovina e leite cru coletadas em açougues da província Wilaya de Jijel, no nordeste da Argélia. A partir dessas amostras, os autores isolaram 235 cepas de *E. coli*. Os resultados revelaram que 7,32% (17/235) dessas cepas apresentavam sorotipos patogênicos indicativos de EHEC, ExPEC, EIEC e EAEC. Além disso, os autores identificaram resistência simultânea a fluoroquinolonas, gentamicina, estreptomicina e cloranfenicol em 10,21% (24/235) dos isolados, caracterizando um perfil MDR. Esses achados reforçam o papel dessas cepas como importantes indicadores da disseminação da RAM ao longo da cadeia de alimentos de origem animal.

A baixa frequência de resistência ao cloranfenicol observada em isolados de *E. coli* de origem veterinária pode refletir a diminuição e/ou proibição do uso desse antibiótico, levando à perda de determinantes de resistência genética, como já demonstrado em populações de enterobactérias isoladas de humanos, nas quais a retirada do fármaco resultou em retorno de suscetibilidade ao cloranfenicol (Graf *et al.*, 2024; Wang *et al.*, 2021).

No Gráfico 3 é apresentado a frequência relativa dos genes de resistência aos fenicóis nas cepas de *E. coli*, bem como a relação entre sua presença e o perfil fenotípico observado. Os genes *cat1* e *clmA* foram identificados em 22,12% (23/104) dos isolados de *E. coli*, sendo que apenas 1,92% (2/104) das cepas apresentaram-se fenotipicamente resistentes ao cloranfenicol. Por outro lado 20,19% (21/104) das cepas foram fenotipicamente sensíveis ao cloranfenicol, mas ainda assim carregavam os genes de resistência.

Gráfico 3 – Frequência relativa da ocorrência dos genes de resistência ao cloranfenicol em cepas de *Escherichia coli*.



Fonte: elaboração própria.

Legenda: *) soma das cepas que apresentaram resistência e resistência intermediária (CLSI, 2024). †) total de cepas de *E. coli* com a presença do gene *cat1* e/ou *clmA*: 22,12% (23/104); ††) total de cepas com resistência e resistência intermediária ao cloranfenicol que também apresentaram genes de resistência *cat1* e/ou *clmA*: 1,92% (2/104); ‡) total de cepas sensíveis ao cloranfenicol, mas que apresentaram genes de resistência *cat1* e/ou *clmA*: 20,19% (21/104).

No estudo de Dehkordi *et al.* (2014) foram analisadas 600 amostras de produtos lácteos fermentados produzidos artesanalmente, coletados em supermercados e pontos de vendas do Irã. Do total de amostras, 8,33% (50/600) estavam contaminadas com *E. coli*. Entre essas cepas de *E. coli*, observou-se que 42% (21/50) apresentaram resistência fenotípica ao cloranfenicol. A análise molecular revelou a presença dos genes *cat1* em 22% (11/50) das cepas de *E. coli* e *clmA* em 24% (12/50) das cepas de *E. coli*. Os autores destacaram que as frequências de detecção dos genes de resistência aos fenicóis não foram diferentes estatisticamente. Esses dados sugerem que os genes *cat1* e o *clmA* mantêm-se disseminados no reservatório bacteriano, indicando pressão seletiva contínua e circulação desses determinantes genéticos em elementos móveis.

Por outro lado, Puangseree *et al.* (2024) analisaram 106 cepas de *E. coli* resistentes ao cloranfenicol que foram previamente coletadas de fezes de suínos saudáveis na Tailândia. Os autores descobriram que 50,94% (54/106) dessas cepas carregavam o gene *clmA* e 0,94% (1/106) possuíam simultaneamente os genes *catA* e *clmA*. Considerando que todas as cepas de *E. coli* apresentavam resistência fenotípica ao cloranfenicol, a baixa detecção de genes sugere que a expressão

fenotípica pode não estar necessariamente associada aos principais genes de resistência aos fenicóis tradicionalmente descritos.

Roberts e Schwarz (2016) demonstraram que o gene *cat1*, quando presente em plasmídeos conjugativos ou integrado ao cromossomo, tende a conferir altos níveis de resistência aos fenicóis e, com frequência, está localizado em grandes plasmídeos que abrigam múltiplos genes de resistência.

Cepas patogênicas de *E. coli* podem abrigar fatores de virulência e genes de resistência a antibióticos em um mesmo elemento genético móvel (Balbuena-Alonso *et al.*, 2022). Os antibióticos mais utilizados, e, portanto, associados a seleção desses genes, são as quinolonas, aminoglicosídeos, macrolídeos, cefalosporinas, sulfonamidas, fluoroquinolonas e tetraciclina. Entre os genes de resistência mais frequentemente detectados em cepas isoladas de amostras diarréicas, alimentos e animais de criação destacam-se *qnr*: (resistência a quinolonas), *dfrA1* (resistência a trimetoprima), *bla_{SHV}*, *bla_{TEM-1}* e *bla_{CTX-M}* (resistência a β -lactâmicos), *tetA* e *tetB* (resistência a tetraciclina), *aac(6)-Ib* (resistência a aminoglicosídeos como gentamicina, algumas variantes também reduzem suscetibilidade a ciprofloxacina), *sul* (resistência a sulfonamidas), *cat-1* e *cmlA* (resistência a fenicóis) e *aadA1* (resistência aos aminoglicosídeos estreptomicina e espectinomicina). Esses achados reforçam que a resistência a antibióticos empregados na produção animal pode ser transferida aos humanos, seja pelo contato direto com animais, seja pelo consumo de produtos de origem animal contaminados (Babines-Orozco *et al.*, 2024).

5.5 RESISTÊNCIA AO ANTIMICROBIANO SULFONAMIDA E IDENTIFICAÇÃO DOS GENES *sul1* e *sul2* NAS CEPAS DE *Escherichia coli*

Na Tabela 4 estão descritos os valores referentes ao perfil de RAM das 104 cepas de *E. coli* frente a sulfonamida. Os resultados mostraram que 90,38% (11/104) das cepas de *E. coli* apresentaram resistência somada a resistência intermediária a sulfonamida.

Tabela 4 – Perfil de resistência antimicrobiana das cepas de *Escherichia coli* frente a sulfonamida.

Antimicrobiano	Resistente n (%)
Sulfonamida	89 (85,57)
Perfil resistente*	94 (90,38)
Perfil Multirresistente†	34 (32,69)
Total de cepas	104

Fonte: elaboração própria.

Legenda: *) soma dos resultados das cepas que apresentaram resistência e resistência intermediária (CLSI, 2024); †) cepas com resistência a sulfonamida e duas classes distintas de antibióticos ou mais. Os resultados de porcentagem foram calculados em relação ao total de 104 cepas de *E. coli*.

Vários estudos relatam altas taxas de RAM a sulfonamidas em cepas de *E. coli* isoladas de leite cru e queijos. Ribeiro *et al.* 2024 analisaram 303 cepas de *E. coli* isoladas em diferentes etapas da produção de leite e fabricação de queijo, em São Paulo, Brasil. Os autores relataram que 93,06% (282/303) das cepas de *E. coli* potencialmente patogênicas foram resistentes ao sulfametoxazol e trimetoprima.

Já Messele *et al.* (2019) analisaram 224 amostras de leite cru coletadas de vacas com mastite em fazendas leiteiras no centro da Etiópia. Após as análises, encontraram uma taxa de prevalência de *E. coli* em 7,14% (16/224) das amostras, com uma taxa de resistência fenotípica de 50,00% (8/16) ao sulfametoxazol e trimetoprima. Além disso, 68,75% (11/16) das cepas apresentaram perfil MDR. Os autores destacaram que o padrão de resistência mais comum encontrado nos isolados multirresistentes foi ampicilina e sulfametoxazol associado a trimetoprima.

O estudo realizado por Kerluku *et al.* (2023) analisou 159 amostras de fezes coletadas de gado leiteiro em fazendas localizadas no Município de Debar, Macedônia do Norte e identificaram que todas as amostras estavam contaminadas com cepas de *E. coli*. Após as análises, verificaram que 24,50% (39/159) das cepas de *E. coli* apresentavam resistência pelo menos um antibiótico testado, sendo que dessas 77,00% (30/39) foram resistentes simultaneamente a ampicilina e ao sulfametoxazol.

A associação de sulfonamida e trimetoprima continua sendo amplamente empregada na medicina veterinária, principalmente pela sua eficácia e baixo custo. Porém, as diretrizes do European Antimicrobial Advice Ad Hoc Expert Group recomendam que combinações de sulfonamida e trimetoprima, sulfadiazina e trimetoprima ou sulfametoxazol e trimetoprima sejam utilizadas com cautela. Isso porque mesmo que esses fármacos não estejam entre os agentes considerados de

maior impacto direto sobre o desenvolvimento de RAM em humanos atualmente, ressalta-se que seu uso deve ser racional, até para minimizar pressões seletivas desnecessárias e reduzir o risco de disseminação de genes de resistência ao longo da cadeia de produção animal (European Medicines Agency, 2018; Gustafsson *et al.*, 2024).

No Brasil, a utilização de antimicrobianos em animais produtores de alimentos é regulamentada pelo MAPA, que estabelece diretrizes específicas para garantir a segurança dos alimentos e o controle de resíduos. A Instrução Normativa SDA/MAPA nº 23/2016 dispõe sobre “os critérios e procedimentos necessários para as alterações de registro de produto de uso veterinário de natureza farmacêutica e biológica” com o objetivo de observar períodos de carência pós-tratamento, de modo a assegurar que o produto não exceda os limites máximos de resíduos permitidos e, assim, evitar riscos ao consumidor (Brasil, 2016).

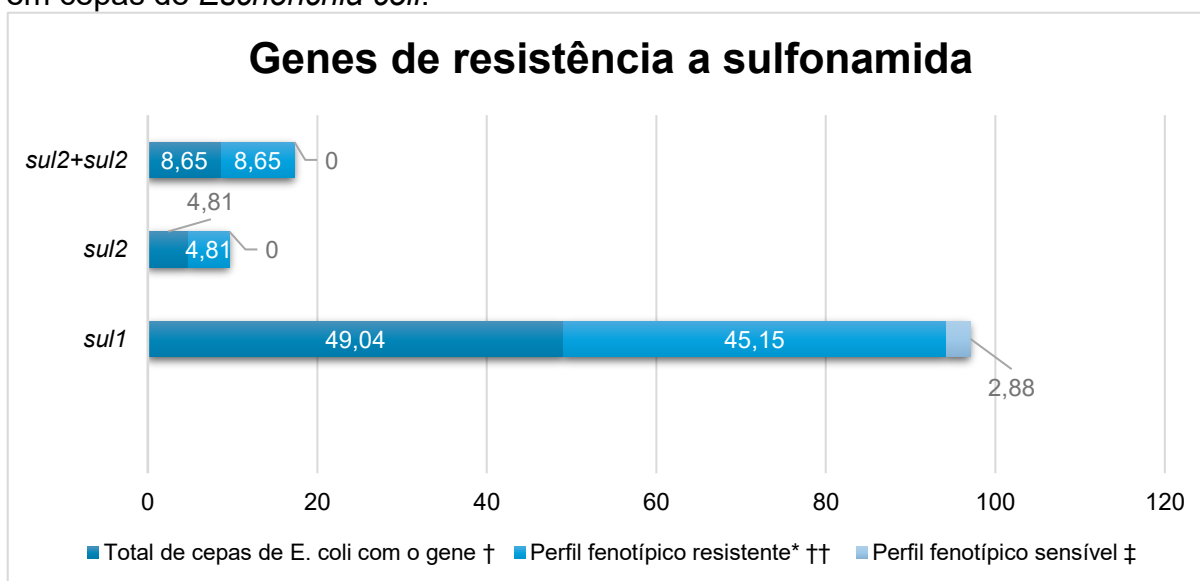
Portanto, embora as sulfonamidas já não sejam consideradas antibióticos prioritários na medicina humana, seu uso contínuo na produção animal mantém elevada a prevalência de genes de resistência em cepas de *E. coli* de origem animal. Além disso, esses genes, frequentemente localizados em plasmídeos, contribuem para a mobilidade da RAM e para a persistência desses determinantes de resistência, mesmo diante da redução do uso clínico dessas drogas em humanos (Venkatesan *et al.*, 2023).

Formenti *et al.* (2021) analisaram 505 cepas de *E. coli* isoladas de bezerros recém-nascidos e observaram cepas de *E. coli* MDR provenientes tanto de animais tratados com antimicrobianos (406/505) quanto naqueles não tratados (99/505). Embora a frequência de cepas de *E. coli* MDR tenha sido significativamente maior nos bezerros tratados com antimicrobianos, a presença de *E. coli* MDR no grupo não tratado com antimicrobianos indica que a RAM já estava estabelecida no ambiente e pode ter sido adquirida por transmissão horizontal, seja por contato com animais mais velhos previamente expostos a antimicrobianos, seja por contaminação ambiental. Esses resultados reforçam a ideia de que a resistência a sulfonamidas persiste não apenas pelo uso direto do fármaco, mas também pela circulação dos genes de RAM no sistema de produção.

No Gráfico 4 é apresentado a frequência relativa dos genes de resistência as sulfonamidas nas cepas de *E. coli*, bem como a relação entre sua presença e o perfil

fenotípico observado. No presente estudo, 62,50% (65/104) das cepas de *E. coli* analisadas portavam genes de resistência à sulfonamida e a maioria das cepas abrigava o gene *sul1* (57,69%, 60/104). Por outro lado, 13,46% (14/104) das cepas de *E. coli* portavam o gene *sul2*. Das cepas que apresentaram resistência no antibiograma, 69,66% (62/89) portavam os genes *sul1* e/ou *sul2*. Além disso, uma pequena proporção de 2,8% (3/104) das cepas de *E. coli* foram fenotipicamente suscetíveis à sulfonamida, mas ainda assim abrigavam os genes *sul1* e/ou *sul2*.

Gráfico 4 –Frequência relativa da ocorrência dos genes de resistência a sulfonamida em cepas de *Escherichia coli*.



Fonte: elaboração própria.

Legenda: *) soma das cepas que apresentaram resistência e resistência intermediária (CLSI, 2024). †) total de cepas de *E. coli* com a presença do gene *sul*: 62,50% (65/104); ††) total de cepas com resistência e resistência intermediária ao cloranfenicol que também apresentaram genes de resistência *sul*: 59,61% (62/104); ‡) total de cepas sensíveis ao cloranfenicol, mas que apresentaram genes de resistência *sul*: 2,88% (3/104).

Estudos recentes têm confirmado a alta prevalência de genes de resistência as sulfonamidas em cepas de *E. coli* isoladas de leites e laticínios. Kuzeubayeva *et al.* (2024) analisaram 207 amostras de três tipos de queijo produzidos no Cazaquistão e observaram que 31,4% (65/207) das amostras de queijo estavam contaminadas com *E. coli*. As amostras de queijo fresco produzidas por pequenas fazendas (80% das amostras) e embaladas no varejo (100%) mostraram o maior nível de contaminação por *E. coli*. Das cepas de *E. coli* isoladas, 30,80% (20/65) portavam o gene *sul1*, sendo o gene de resistência mais frequente do estudo.

Resultados semelhantes foram observados por Gao *et al.* (2025) que analisaram 350 amostras de leite cru coletadas de grandes fazendas na China e obtiveram 81 isolados de *E. coli*, dos quais 33,33% (27/81) apresentaram multirresistência antimicrobiana. Entre os isolados MDR, 11,10% (3/27) carregaram o gene *sul1* e 25,90% (7/27) abrigavam o gene *sul2*.

Ahmed e Bahwerth (2025) investigaram 68 amostras de fezes de ovinos coletadas na região Oeste do Reino da Arábia Saudita, a partir das quais foram isolados 49 microrganismos Gram-negativos, incluindo uma porcentagem de cepas de *E. coli* de 53,10% (26/49). Os autores relataram que das 80,80% (21/26) cepas de *E. coli* com resistência a sulfonamida e trimetoprima, 46,20% (12/26) abrigavam o gene *sul1* e 42,30% (11/26) abrigavam o gene *sul3*.

As sulfonamidas exibem um amplo espectro de atividade contra a maioria das bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Como resultado têm sido usadas por décadas em animais e humanos e os mecanismos de resistência à sulfonamida têm sido frequentemente identificados em cepas de *E. coli*. A mobilidade genética de resistência a sulfonamida facilita a transferência dos genes *sul*, contribuindo para a disseminação da RAM entre diferentes populações bacterianas (Jiang *et al.*, 2024; Los Santos *et al.*, 2021; Sánchez-Osuna *et al.*, 2019).

Os genes *sul1* e *sul2* estão entre os determinantes de resistência às sulfonamidas mais frequentemente detectados em cepas de *E. coli* isoladas de animais. O gene *sul1* apresenta elevada prevalência porque está inserido no segmento 3'-conservado (3'-CS) dos integrons de classe 1, considerado um elemento genético móvel altamente eficiente na captação, recombinação e expressão de cassetes gênicos. Essa localização favorece a co-ocorrência de *sul1* com múltiplos genes de RAM presentes na região variável dos integrons, o que contribui para sua ampla disseminação em *E. coli*. Os integrons de classe 1 portando o gene *sul1* têm sido identificados em *E. coli* isoladas de animais de produção, tanto clinicamente saudáveis quanto doentes, em diferentes países, indicando sua circulação global (Catania *et al.*, 2024; Jiang *et al.*, 2024; Los Santos *et al.*, 2021).

5.6 PADRÕES GENOTÍPICOS DE RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA IDENTIFICADOS NAS CEPAS DE *Escherichia coli*

Um total de 60 padrões genotípicos de RAM foram identificados nas cepas de *E. coli* (Tabela 5), representando 80,77% (84/104) dos isoladas. Os padrões genotípicos de RAM mais frequentes foram *bla*_{CTX-M} – *sul1* – *tetA* – *tetB* – *bla*_{TEM}, observado em 4,81% (5/104) das cepas, e *sul1* – *tetA* – *tetB*, observado em 3,85% (4/104) das cepas.

Tabela 5 – Perfis genotípicos de resistência antimicrobiana de cepas de *Escherichia coli* isoladas de queijos Minas Frescal de produção artesanal comercializados no Distrito Federal.

Perfil	Padrões de resistência	n	%
1	<i>clmA</i> – <i>bla</i> _{CTX-M} – <i>sul1</i> – <i>tetA</i> – <i>tetB</i> – <i>bla</i> _{TEM} – <i>bla</i> _{SHV}	1	0.96%
2	<i>bla</i> _{CTX-M} – <i>sul1</i> – <i>tetA</i> – <i>tetB</i> – <i>bla</i> _{TEM} – <i>bla</i> _{SHV}	2	1.92%
3	<i>bla</i> _{CTX-M} – <i>sul1</i> – <i>sul2</i> – <i>tetA</i> – <i>tetB</i> – <i>bla</i> _{SHV}	1	0.96%
4	<i>bla</i> _{CTX-M} – <i>sul1</i> – <i>sul2</i> – <i>tetA</i> – <i>tetB</i> – <i>bla</i> _{TEM}	2	1.92%
5	<i>clmA</i> – <i>bla</i> _{CTX-M} – <i>sul1</i> – <i>tetA</i> – <i>tetB</i> – <i>bla</i> _{SHV}	1	0.96%
6	<i>bla</i> _{CTX-M} – <i>sul1</i> – <i>sul2</i> – <i>tetA</i> – <i>bla</i> _{SHV}	1	0.96%
7	<i>bla</i> _{CTX-M} – <i>sul1</i> – <i>sul2</i> – <i>tetA</i> – <i>tetB</i>	1	0.96%
8	<i>bla</i> _{CTX-M} – <i>sul1</i> – <i>tetA</i> – <i>bla</i> _{TEM} – <i>bla</i> _{SHV}	1	0.96%
9	<i>bla</i> _{CTX-M} – <i>sul1</i> – <i>tetA</i> – <i>tetB</i> – <i>bla</i> _{SHV}	1	0.96%
10	<i>bla</i> _{CTX-M} – <i>sul1</i> – <i>tetA</i> – <i>tetB</i> – <i>bla</i> _{TEM}	5	4.81%
11	<i>bla</i> _{CTX-M} – <i>sul1</i> – <i>tetB</i> – <i>bla</i> _{TEM} , – <i>bla</i> _{SHV}	1	0.96%
12	<i>cat1</i> – <i>bla</i> _{CTX-M} – <i>sul1</i> – <i>tetB</i> – <i>bla</i> _{TEM}	1	0.96%
13	<i>cat1</i> – <i>clmA</i> – <i>sul1</i> – <i>tetB</i> – <i>bla</i> _{TEM}	1	0.96%
14	<i>clmA</i> – <i>bla</i> _{CTX-M} – <i>sul1</i> – <i>tetA</i> – <i>tetB</i>	1	0.96%
15	<i>clmA</i> – <i>bla</i> _{CTX-M} – <i>sul1</i> – <i>sul2</i> – <i>tetB</i>	1	0.96%
16	<i>clmA</i> – <i>bla</i> _{CTX-M} – <i>tetA</i> – <i>tetB</i> – <i>bla</i> _{TEM}	1	0.96%
17	<i>sul1</i> – <i>sul2</i> – <i>tetA</i> – <i>tetB</i> – <i>bla</i> _{SHV}	1	0.96%
18	<i>sul1</i> – <i>sul2</i> – <i>tetA</i> – <i>bla</i> _{TEM} – <i>bla</i> _{SHV}	1	0.96%
19	<i>sul1</i> – <i>sul2</i> – <i>tetA</i> – <i>tetB</i> – <i>bla</i> _{SHV}	1	0.96%
20	<i>sul1</i> – <i>tetA</i> – <i>tetB</i> – <i>bla</i> _{TEM} – <i>bla</i> _{SHV}	1	0.96%
21	<i>bla</i> _{CTX-M} – <i>sul1</i> – <i>tetA</i> – <i>bla</i> _{TEM}	1	0.96%
22	<i>bla</i> _{CTX-M} – <i>sul2</i> – <i>tetA</i> – <i>tetB</i>	1	0.96%
23	<i>bla</i> _{CTX-M} – <i>tetA</i> – <i>tetB</i> – <i>bla</i> _{TEM}	1	0.96%
24	<i>bla</i> _{CTX-M} – <i>sul1</i> – <i>tetB</i> – <i>bla</i> _{TEM}	1	0.96%
25	<i>bla</i> _{CTX-M} – <i>sul1</i> – <i>tetA</i> – <i>tetB</i>	2	1.92%

Perfil	Padrões de resistência	n	%
26	<i>cat1 – bla_{CTX-M} – sul1 – tetA</i>	1	0.96%
27	<i>clmA – bla_{CTX-M} – sul2 – bla_{TEM}</i>	1	0.96%
28	<i>clmA – bla_{CTX-M} – tetA – tetB</i>	1	0.96%
29	<i>clmA – bla_{CTX-M} – tetB – bla_{TEM}</i>	1	0.96%
30	<i>clmA – sul1 – tetA – bla_{SHV}</i>	1	0.96%
31	<i>clmA – sul1 – tetA – tetB</i>	1	0.96%
32	<i>clmA – tetA – tetB – bla_{SHV}</i>	1	0.96%
33	<i>sul1 – tetA – bla_{TEM} – bla_{SHV}</i>	1	0.96%
34	<i>sul1 – tetA – tetB – bla_{SHV}</i>	2	1.92%
35	<i>sul1 – tetA – tetB – bla_{TEM}</i>	3	2.88%
36	<i>bla_{CTX-M} – sul1 – sul2</i>	1	0.96%
37	<i>bla_{CTX-M} – sul1 – tetA</i>	3	2.88%
38	<i>bla_{CTX-M} – tetA – bla_{TEM}</i>	1	0.96%
39	<i>bla_{CTX-M} – sul1 – tetB</i>	1	0.96%
40	<i>bla_{CTX-M} – tetA – tetB</i>	2	1.92%
41	<i>cat1 – bla_{CTX-M} – tetA</i>	1	0.96%
42	<i>cat1 – sul1 – bla_{TEM}</i>	1	0.96%
43	<i>clmA – sul1 – bla_{TEM}</i>	1	0.96%
44	<i>clmA – sul1 – tetA</i>	1	0.96%
45	<i>clmA – tetA – bla_{TEM}</i>	1	0.96%
46	<i>sul1 – tetA – tetB</i>	4	3.85%
47	<i>sul1 – tetB – bla_{SHV}</i>	1	0.96%
48	<i>sul1 – tetB – bla_{TEM}</i>	1	0.96%
49	<i>bla_{CTX-M} – bla_{SHV}</i>	1	0.96%
50	<i>bla_{CTX-M} – sul2</i>	1	0.96%
51	<i>bla_{CTX-M} – bla_{TEM}</i>	1	0.96%
52	<i>bla_{CTX-M} – tetB</i>	1	0.96%
53	<i>bla_{CTX-M} – tetA</i>	1	0.96%
54	<i>clmA – bla_{CTX-M}</i>	3	2.88%
55	<i>clmA – sul2</i>	1	0.96%
56	<i>sul1 – bla_{SHV}</i>	3	2.88%
57	<i>sul1 – bla_{TEM}</i>	2	1.92%

Perfil	Padrões de resistência	n	%
58	<i>sul1 – tetA</i>	3	2.88%
59	<i>sul2– tetA</i>	1	0.96%
60	<i>tetA</i>	2	1.92%
Total		84	80.77%

Fonte: elaboração própria.

Legenda: n) número de cepas; %) porcentagem de cepas considerando o total de 104 isolados de *Escherichia coli*.

No presente estudo, verificou-se que sete cepas de *E. coli* exibiram um fenótipo resistente sem, no entanto, portarem nenhum dos genes de resistência investigados. É provável que estas cepas abriguem outros genes de RAM não incluídos na análise atual, como por exemplo o *sul3* para as sulfonamidas (Ombarak *et al.*, 2018), *tetC* para as tetraciclinas (Tabaran *et al.*, 2017) e *blaCMY* para os betalactâmicos (Ribeiro *et al.*, 2016). Por outro lado, vários isolados de *E. coli* não demonstraram resistência fenotípica a determinado antimicrobiano, mas expressaram resistência genotípica, o que pode refletir a presença de genes silenciosos, baixa expressão gênica sob as condições laboratoriais ou limiares de expressão insuficientes para gerar resistência detectável pelo método fenotípico (Lipszyc *et al.*, 2022; Stasiak *et al.*, 2021).

Além disso, os mecanismos de resistência a antibióticos observados em bactérias pertencentes ao mesmo grupo ou espécie têm revelado capacidades e níveis de resistência não uniformes, fenômeno conhecido como heterogeneidade bacteriana. A heterogeneidade fenotípica ocorre quando uma população bacteriana geneticamente idêntica não apresenta o mesmo comportamento. Mesmo sendo genotipicamente iguais, essas bactérias podem exibir características e funções distintas, como diferenças na expressão gênica, na taxa de multiplicação, na produção de proteínas e até mesmo no grau de resistência a antibióticos. Esse tipo de variação é reconhecido como uma adaptação evolutiva dos microrganismos em resposta às mudanças ambientais imprevisíveis e funciona como uma estratégia de “aposta segura” (*bet-hedging*), na qual parte da população adota estados alternativos para aumentar as chances de sobrevivência diante de condições adversas (De Groot *et al.*, 2023; Reyes Ruiz *et al.*, 2020; Zhu *et al.*, 2024).

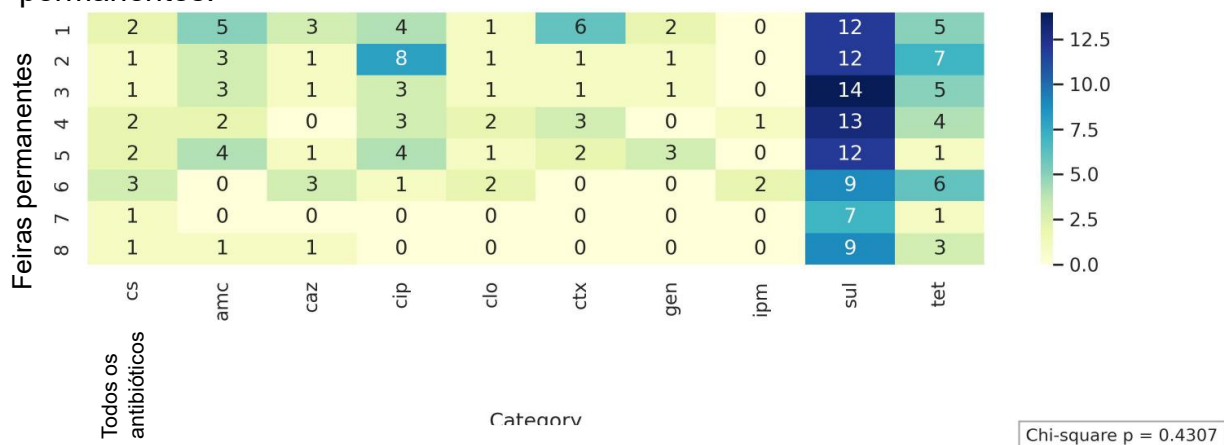
Portanto, a discrepância da RAM entre genótipo e fenótipo permanece um desafio para a bacteriologia clínica, influenciando a precisão no diagnóstico e a

prescrição racional de antimicrobianos. Essa discordância entre genótipo e fenótipo pode levar a decisões terapêuticas inadequadas, especialmente quando fenótipos heterogêneos de suscetibilidade não são devidamente interpretados (Urmi *et al.*, 2020).

É importante destacar que métodos baseados em PCR detectam apenas a presença dos genes de RAM, sem fornecer informações sobre seu nível de expressão ou se esses genes estão funcionalmente ativos. Assim, é frequente identificar genes de RAM mesmo em cepas fenotipicamente sensíveis (Williams *et al.*, 2019).

As análises da distribuição da RAM fenotípica e genotípica nas diferentes feiras permanentes do Distrito Federal onde as amostras de queijos foram coletadas estão descritas nas Figuras 20 e 21. As associações entre feiras permanentes e resistência fenotípica (Figura 20) e genotípica (Figura 21) foram fracas, com pequenos tamanhos de efeito e valores de qui-quadrado não significativos ($p = 0,43$ e $p = 0,32$, respectivamente), indicando que os perfis de RAM estavam amplamente distribuídos entre as feiras permanentes e as amostras de queijo correspondentes, sem diferenças geográficas aparentes nos padrões de RAM.

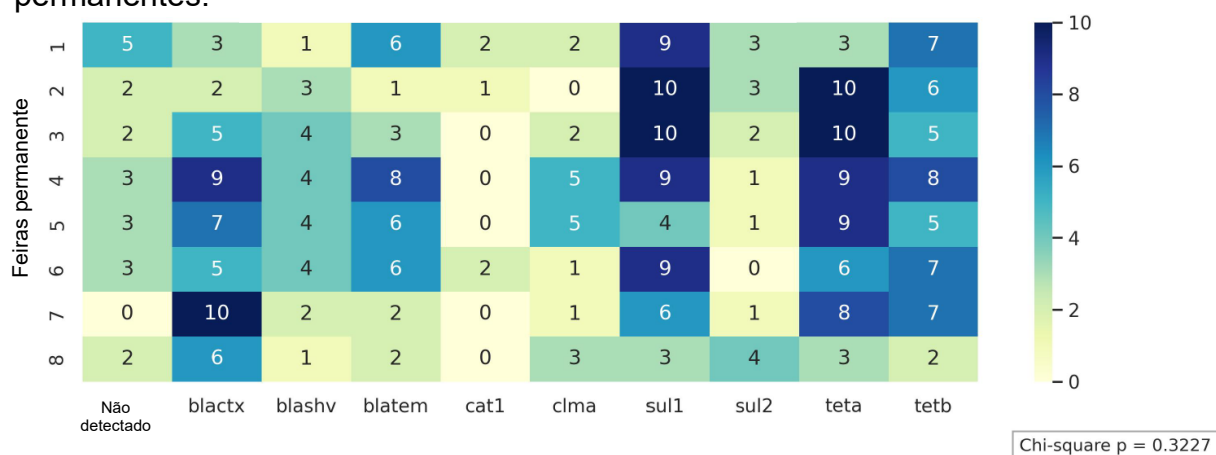
Figura 20 – Distribuição da resistência antimicrobiana fenotípica por feiras permanentes.



Fonte: elaboração própria.

Legenda: amc – amoxicilina com ácido clavulânico; caz – ceftazidima; cip – ciprofloxacina; clo – cloranfenicol; ctx – cefotaxima; gen – gentamicina; ipm – imipenem; sul – sulfonamida; tet – tetraciclina. Teste Qui-quadrado de Pearson ($p = 0,4307$).

Figura 21 – Distribuição da resistência antimicrobiana genotípica por feiras permanentes.

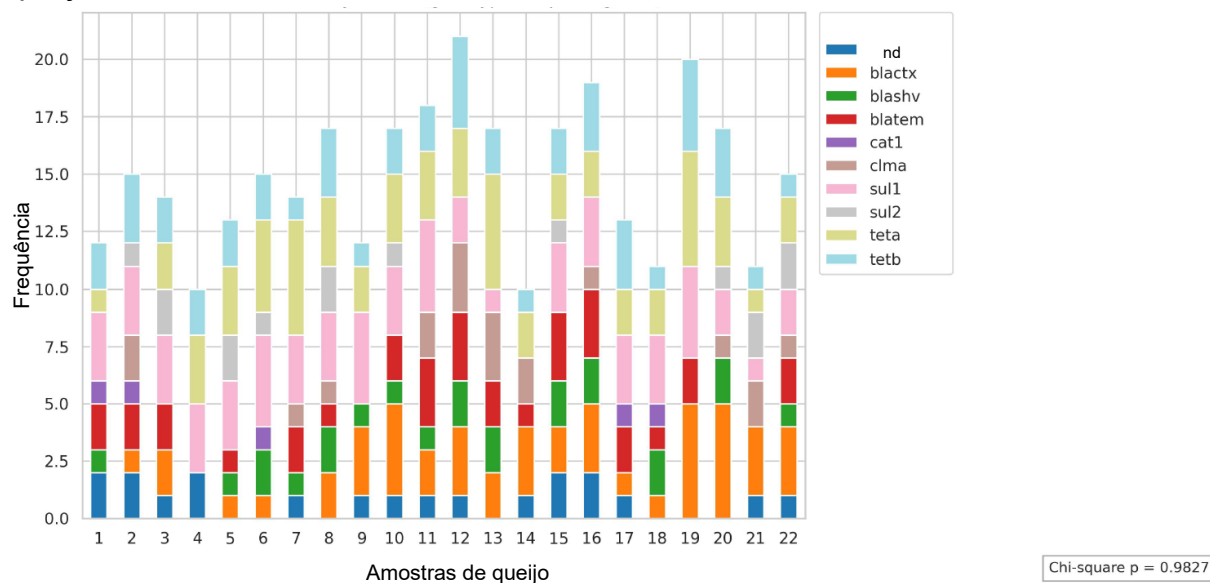


Fonte: elaboração própria.

Legenda: market – feiras permanentes; not found – não detectado. Teste Qui-quadrado de Pearson ($p = 0,3227$).

A Figura 22 apresenta a distribuição de genes de RAM nas amostras de queijo. Essa análise também mostrou evidência limitada de dependência ($p = 0,98$), sugerindo que os genes de RAM não estavam agrupados em feiras permanentes ou amostras de queijo específicos. Esses resultados indicam que a resistência fenotípica e genotípica identificada esteve dispersa nas feiras permanentes e nas amostras de queijos e não houve concentração significativa de padrões de resistência em locais ou produtos específicos.

Figura 22 – Distribuição de genes de resistência antimicrobiana nas amostras de queijo.



Fonte: elaboração própria.

Legenda: nd – não detectado; Teste Qui-quadrado de Pearson ($p = 0,3227$).

O queijo Minas Frescal possui fatores intrínsecos, como alta umidade, pH neutro e riqueza de nutrientes, os quais favorecem o crescimento bacteriano. Esses fatores combinados com o uso de leite cru em sua produção, resulta em um elevado nível de contaminação por bactérias potencialmente patogênicas, incluindo *E. coli*. A situação é ainda agravada pela presença simultânea de RAM genotípica e fenotípica nessas bactérias. Portanto, é essencial implementar programas educacionais para pequenos produtores de queijo artesanal, enfatizando a proibição do uso de leite cru na fabricação de queijos frescos, além de fortalecer a fiscalização desses produtos. Tais medidas são fundamentais para melhorar a segurança desses alimentos e proteger os consumidores contra potenciais riscos à saúde associados ao consumo desses queijos (Camargo *et al.*, 2021; De Campos *et al.*, 2018; Oliveira *et al.*, 2021; Pena *et al.*, 2021; Pineda *et al.*, 2021).

6 CONCLUSÃO

Neste estudo, foram isoladas 104 cepas de *E. coli* a partir de 22 amostras de queijo Minas Frescal artesanal. As maiores taxas de resistência fenotípica foram observadas para sulfonamidas (85,58%, 89/104) e tetraciclinas (38,46%, 40/104). Na análise genotípica, a maioria dos isolados de *E. coli* carregava os genes de resistência às sulfonamidas *sul1* e/ou *sul2* (62,50%, 65/104), os genes de resistência à tetraciclina *tetA* e/ou *tetB* (65,38%, 68/104) e os genes de resistência a β -lactâmicos *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM} e/ou *bla*_{SHV} (55,77%, 58/104). A discrepância entre resistência fenotípica e genotípica sugere a presença de genes silenciosos ou não expressos nas cepas de *E. coli*.

A alta frequência de cepas de *E. coli* exibindo RAM tanto fenotípica quanto genotípica em queijo Minas Frescal artesanal levanta preocupações de saúde pública devido ao potencial de disseminação desses determinantes de resistência por meio da cadeia alimentar. Esses achados destacam a necessidade de regulamentação mais rigorosa e de uma supervisão mais eficaz dos processos de produção e comercialização desses queijos artesanais, bem como da implementação de estratégias educativas para os produtores sobre a importância de pasteurizar o leite utilizado na produção dos queijos frescos para minimizar os riscos microbiológicos associados a esses produtos.

Estudos futuros podem trabalhar a investigação do potencial de disseminação dos genes de resistência antimicrobiana identificados, avaliando sua associação a elementos genéticos móveis, como plasmídeos conjugativos e íntegrans, bem como sua capacidade de transferência horizontal entre bactérias. Abordagens baseadas em sequenciamento genômico total podem ampliar a compreensão do resistoma presente em cepas de *E. coli* isolada de queijos Minas Frescal artesanais, permitindo identificar genes adicionais, mecanismos regulatórios e explicar as discrepâncias observadas entre os perfis fenotípico e genotípico.

REFERÊNCIAS

Abou-Dobara, M. I.; El-Sayed, A. K.; El-Fallal, A. A.; Elsalamony, S. M. Rapid detection of indicator bacteria in drinking water using multiplex PCR Technique. **Scientific Journal for Damietta Faculty of Science**, v. 13, n. 2, p. 48-56, 2022. DOI: <https://doi.org/10.21608/sjdfs.2023.169490.1059>. Disponível em: https://sjdfs.journals.ekb.eg/article/297543_a457e0e6eda25afcc7589317f4b7593a.pdf. Acesso em: 8 nov. 2025.

Acosta, A.; Tirkaso, W.; Nicolli, F.; Van Boeckel, T. P.; Cinardi, G.; Song, J. The future of antibiotic use in livestock. **Nature Communications**, v. 16, n. 1, p. 2469, 1 abr. 2025. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-025-56825-7>. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11962127/pdf/41467_2025_Article_56825.pdf. Acesso em: 5 abr. 2025.

Admassie, M. A review on food fermentation and the biotechnology of lactic acid bacteria. **World Journal of Food Science and Technology**, v. 2, n. 1, p. 19-24, 2018. DOI: [10.11648/j.wjfst.20180201.13](https://doi.org/10.11648/j.wjfst.20180201.13). Disponível em: <https://www.sciencepublishinggroup.com/article/10.11648/j.wjfst.20180201.13>. Acesso em: 12 jan. 2025.

Aguiar, R. A. C.; Ferreira, F. A.; Dias, R. S.; Nero, L. A.; Miotto, M.; Verruck, S.; Marco, I. D.; Lindner, J. D. D. Graduate student literature review: Enterotoxigenic potential and antimicrobial resistance of staphylococci from Brazilian artisanal raw milk cheeses. **Journal of Dairy Science**, v. 105, n. 7, p. 5685–5699, 2022. DOI: [10.3168/jds.2021-21634](https://doi.org/10.3168/jds.2021-21634). Disponível em: [https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(22\)00317-4/fulltext](https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(22)00317-4/fulltext). Acesso em: 6 jan. 2025.

Aguiar, R. A. C.; Ferreira, F. A.; Rubio Cieza, M. Y.; Silva, N. C. C.; Miotto, M.; Carvalho, M. M.; Bazzo, B. R.; Botelho, L. A. B.; Dias, R. S.; De Dea Lindner, J. *Staphylococcus aureus* isolated from traditional artisanal raw milk cheese from Southern Brazil: diversity, virulence, and antimicrobial resistance profile. **Journal of Food Protection**, v. 87, n. 6, p. 100285, 2024. DOI: [10.1016/j.jfp.2024.100285](https://doi.org/10.1016/j.jfp.2024.100285). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0362028X24000693?via%3Dihub>. Acesso em: 10 fev. 2025.

Ahmed, M. O.; Clegg, P. D.; Williams, N. J.; Baptiste, K. E.; Bennett, M. Antimicrobial resistance in equine faecal *Escherichia coli* isolates from Northwest England. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 9, n. 12, p. 1-7, 2010. DOI: [10.1186/1476-0711-9-12](https://doi.org/10.1186/1476-0711-9-12). Disponível em: <https://ann-clinmicrob.biomedcentral.com/articles/10.1186/1476-0711-9-12>. Acesso em: 20 out. 2025.

Ahmed, O. B.; Bahwerth, F. S. The prevalence of antibiotic-resistant genes in *Escherichia coli* isolated from the intestines of imported sheep. In: ZENG, P. (Org.). **Escherichia coli - From Normal Intestinal Bacteria to Lethal Microbes**. IntechOpen, 2025. p. 1–21. DOI: <https://doi.org/10.5772/intechopen.1010194>. Disponível em: <https://www.intechopen.com/chapters/1223435>. Acesso em: 17 nov. 2025.

Ahmed, S. K.; Hussein, S.; Qurbani, K.; Ibrahim, R. H.; Fareeq, A.; Mahmood, K. A.; Mohamed, M. G. Antimicrobial resistance: impacts, challenges, and future prospects. **Journal of Medicine, Surgery, and Public Health**, v. 2, p. 100081, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.glmedi.2024.100081>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2949916X24000343>. Acesso em: 4 mar. 2025.

Ajayi, A. O.; Akinjogunla, O. J.; Odeyemi, A. T.; Owolabi, A. O. Role of plasmids in antibiotic resistance in clinical infections and implications for epidemiological surveillance: a review. **All Life**, v. 17, n. 1, p. e2350414, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1080/26895293.2024.2350414>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/epdf/10.1080/26895293.2024.2350414>. Acesso em: 9 out. 2025.

Ajmera, A.; Shabbir, N. **Salmonella**. In: STATPEARLS. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023. Atualizado em: 8 ago. 2023. Disponível em: National Center for Biotechnology Information (NCBI). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK555892/>. Acesso em: 04 fev. 2025.

Alcala, A.; Ramirez, G.; Solis, A.; Kim, Y.; Tan, K.; Luna, O.; Nguyen, K.; Vazquez, D.; Ward, M.; Zhou, M.; Mulligan, R.; Maltseva, N.; Kuhn, M. L. Structural and functional characterization of three Type B and C chloramphenicol acetyltransferases from *Vibrio* species. **Protein Science**, v. 29, n. 3, p. 695–710, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1002/pro.3802>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7020993/>. Acesso em: 19 out. 2025.

Ali, R. I.; Abdelaziz, E. A.; Kamel, M. A.; Murad, S. K.; Abdallah, H. M.; Salem, G. A. Phenotypic and genotypic characterization of extended spectrum β -lactamase producing *E. coli* harboring carbapenem and colistin resistant genes from poultry farms in Egypt. **Open Veterinary Journal**, v. 14, n. 1, p. 459-469, 2024. DOI: <https://doi.org/10.5455/ovj.2024.v14.i1.42>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11018422/>. Acesso em: 16 out. 2025.

Albuquerque, T. M. N. C.; Campos, G. Z.; D' Ovidio, L.; Pinto, U. M.; Sobral, P. J. A.; Galvão, J. A. Unveiling safety concerns in Brazilian artisanal cheeses: a call for enhanced ripening protocols and microbiological assessments. **Foods**, v. 13, n. 11, p. 1644, 2024. DOI: [10.3390/foods13111644](https://doi.org/10.3390/foods13111644). Disponível em: <https://www.mdpi.com/2304-8158/13/11/1644>. Acesso em: 02 fev. 2025.

Allaion, J. R.; Barrionuevo, K. G.; Franco, B. D. G. M. Assessing the Microbiological Safety Parameters of Minas Artisanal Cheese Samples in Retail Environments in São Paulo, Brazil. **Applied Sciences**, v. 11, n. 19, p. 9331, 2021. DOI: [10.3390/app11199331](https://doi.org/10.3390/app11199331). Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-3417/11/19/9331>. Acesso em: 22 jan. 2025.

Alsanjary, L. H.; Sheet, O. H. Molecular detection of *uidA* gene in *Escherichia coli* isolated from the dairy farms in Nineveh governorate, Iraq. **Iraqi Journal of Veterinary Sciences** v. 36, n. 3, p. 599-603, 2022. <https://doi.org/10.33899/ijvs.2021.131046.1913>. Disponível em:

<https://iasj.rdd.edu.iq/journals/uploads/2024/12/22/41a7b29d2dbfbfe020a4225fea9558cc.pdf>. Acesso em: 6 nov. 2025.

Alvarez-Hernandez, D. A.; Garza-Mayen, G. S.; Vazquez-Lopez, R. Quinolonas: Perspectivas actuales y mecanismos de resistencia. **Revista Chilena de Infectologia**, 2015, v. 32, n. 5, p. 499–504. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182015000600002>. Disponível em: https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182015000600002. Acesso em: 18 out. 2025.

Alvisi, G.; Curtoni, A.; Fonnesu, R.; Piazza, A.; Signoretto, C.; Piccinini, G.; Sassera, D.; Gaibani, P. Epidemiology and genetic traits of carbapenemase-producing Enterobacterales: a global threat to human health. **Antibiotics**, v. 14, n. 2, 20 p., 2025. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics14020141>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-6382/14/2/141>. Acesso em: 15 out. 2025.

American Society for Microbiology (ASM). Transmission electron micrographs of negatively stained *Salmonella Typhimurium* flagella and fimbriae and *Campylobacter jejuni* flagella, 2011. Disponível em: <https://asm.org/image-gallery/transmission-electron-micrographs-of-negatively-st>. Acesso em: 15 fev. 2025.

Amorim, A. L. B. Do C.; Couto, E. P.; Santana, A. P.; Ribeiro, J. L.; Ferreira, M. De A. Avaliação da qualidade microbiológica de queijos do tipo Minas padrão de produção industrial, artesanal e informal. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 73, n. 4, p. 1-8, 2014. DOI: [10.18241/0073-98552014731628](https://doi.org/10.18241/0073-98552014731628). <https://periodicos.saude.sp.gov.br/index.php/RIAL/article/view/33377>. Acesso em: 06 fev. 2025.

Andreozzi, E.; Uhlich, G. A. PchE regulation of *Escherichia coli* O157:H7 flagella, controlling the transition to host cell attachment. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 13, art. 4592, 2020. DOI: [10.3390/ijms21134592](https://doi.org/10.3390/ijms21134592). Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/13/4592>. Acesso em: 17 fev. 2025.

Ansharieta, R.; Effendi, M. H.; Plumeriastuti, H. Detection of multidrug-resistant (MDR) *Escherichia coli* isolated from raw milk in east Java province, Indonesia. **Indian Journal of Forensic Medicine and Toxicology**, v. 14, n. 4, p. 3403–3407, 2020. DOI: [10.37506/ijfmt.v14i4.12151](https://doi.org/10.37506/ijfmt.v14i4.12151). Disponível em: <https://doi.org/10.37506/ijfmt.v14i4.12151>. Acesso em: 16 nov. 2025.

Antibiotic Resistance Coalition. **Muscat Ministerial Manifesto on Antimicrobial Resistance: Statement by Antibiotic Resistance Coalition members**. Muscat: ARC, nov. 2022. Disponível em: [https://static1.squarespace.com/static/5c3784843c3a534eadd60de4/t/637ee51969c96041eadeec8f/1669260570162/ARC%2BInput OmanMinisterialDeclaration Novemb er2022.pdf](https://static1.squarespace.com/static/5c3784843c3a534eadd60de4/t/637ee51969c96041eadeec8f/1669260570162/ARC%2BInput+OmanMinisterialDeclaration+Novemb+er2022.pdf). Acesso em: 4 abr. 2025.

Antoszewska, A.; Maćkiw, E.; Kowalska, J.; Patoleta, M.; Ławrynowicz-Paciorek, M.; Postupolski, J. Microbiological Risks of Traditional Raw Cow's Milk Cheese (Koryciński Cheeses). **Foods**, v. 13, n. 9, p. 1364, 2024. DOI: [10.3390/foods13091364](https://doi.org/10.3390/foods13091364). Disponível em: <https://doi.org/10.3390/foods13091364>. Acesso em: 17 nov. 2025.

Arabi, H.; Pakzad, I.; Nasrollahi, A.; Hosainzadegan, H.; Azizi Jalilian, F.; Taherikalani, M.; Samadi, N.; Monadi Sefidan, A. Sulfonamide Resistance Genes (*sul*) M in Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL) and Non-ESBL Producing *Escherichia coli* Isolated From Iranian Hospitals. **Jundishapur Journal of Microbiology**, v. 8, n. 7, p. 1-6, 2015. DOI: [10.5812/jjm.19961v2](https://doi.org/10.5812/jjm.19961v2). Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4584071/>. Acesso em: 20 out. 2025.

Aragão, A. C. S. **Resistência às fluoroquinolonas em cepas de *Escherichia coli* isoladas de queijos artesanais**. 41 f. Monografia (Graduação em Farmacêutico) – Universidade de Brasília, Faculdade de Ceilândia, Brasília, 2023. Acesso em: 19 out. 2025.

Araújo, J. P. A.; Camargo, A. C.; Carvalho, A. F.; Nero, L. A. Uma análise histórico-crítica sobre o desenvolvimento das normas brasileiras relacionadas a queijos artesanais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 72, n. 5, p. 1845-1860, 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-11766>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abmvz/a/hXbSqrB9NfTcJJrmP946FRs/?lang=pt>. Acesso em: 07 jan. 2025.

Associação Brasileira Das Indústrias De Queijo (ABIQ). *Associação Brasileira das Indústrias de Queijo*. 2021. Disponível em: <https://abiq.com.br/>. Acesso em: 29 dez. 2025.

Babines-Orozco, L.; Balbuena-Alonso, M. G.; Barrios-Villa, E.; Lozano-Zarain, P.; Martínez-Laguna, Y.; Rocha-Gracia, R. C.; Cortés-Cortés, G. Antimicrobial resistance in food-associated *Escherichia coli* in Mexico and Latin America. **Bioscience of Microbiota, Food and Health**, v. 43, n. 1, p. 4–12, 2024. DOI: <https://doi.org/10.12938/bmfh.2023-022>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38188662/>. Acesso em: 15 abr. 2025.

Bala, A.; Uhlin, B. E.; Karah, N. Insights into the genetic contexts of sulfonamide resistance among early clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 112, p. 105444, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2023.105444>. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2023.105444>. Acesso em: 20 out. 2025.

Balbuena-Alonso, M. G.; Cortés-Cortés, G.; Kim, J. W.; Lozano-Zarain, P.; Camps, M.; Rocha-Gracia, R. C. Genomic analysis of plasmid content in food isolates of *E. coli* strongly supports its role as a reservoir for the horizontal transfer of virulence and antibiotic resistance genes. **Plasmid**, v. 123–124, 102650, 2022. DOI: [10.1016/j.plasmid.2022.102650](https://doi.org/10.1016/j.plasmid.2022.102650). Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plasmid.2022.102650>. Acesso em: 14 nov. 2025.

Bale, B. I.; Elebesunu, E. E.; Manikavasagar, P.; Agwuna, F. O.; Ogunkola, I. O.; Sow, A. U.; Lucero-Prisno Iii, D. E. Antibiotic resistance in ocular bacterial infections: an integrative review of ophthalmic chloramphenicol. **Tropical Medicine and Health**, v. 51, n. 15, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1186/s41182-023-00496-x>. Disponível em: <https://tropmedhealth.biomedcentral.com/articles/10.1186/s41182-023-00496-x>. Acesso em: 19 out. 2025.

Basak, S.; Guillier, L.; Beet, J.; Christy, J.; Tenenhaus-Aziza, F.; Vazquez, E. Multipathogen quantitative risk assessment in raw milk soft cheese. **Microbial Risk Analysis**, v. 27-28, 100318, 2024. DOI: [10.1016/j.mran.2024.100318](https://doi.org/10.1016/j.mran.2024.100318). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S235235222400029X>. Acesso em: 02 fev. 2025.

Beheshti, M.; Ardebili, A.; Beheshti, F.; Rastegar Lari, A.; Siyadatpanah, A.; Pournajaf, A.; Gautam, D.; Dolma, K. G.; Nissapatorn, V. Tetracycline resistance mediated by tet efflux pumps in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 62, e88, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1678-9946202062088>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rimtsp/a/bMNYwqpF5NJfwD7WPyRTdd/?format=pdf&lang=en>. Acesso em: 17 out. 2025.

Belaynehe, Kuastros M.; Shin, Seung W.; Yoo, Han S. Interrelationship between tetracycline resistance determinants, phylogenetic group affiliation and carriage of class 1 integrons in commensal *Escherichia coli* isolates from cattle farms. **BMC Veterinary Research**, v. 14, n. 1, p. 1-11, 2018. DOI: [10.1186/s12917-018-1661-3](https://doi.org/10.1186/s12917-018-1661-3). Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1661-3>. Acesso em: 20 out. 2025.

Bera, P.; Mondal, J. Machine learning unravels inherent structural patterns in *Escherichia coli* Hi-C matrices and predicts chromosome dynamics. **Nucleic Acids Research**, v. 52, n. 18, p. 10836–10849, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkae749>. Disponível em: <https://academic.oup.com/nar/article/52/18/10836/7747202>. Acesso em: 8 out. 2025.

Bethke, J. H.; Ma, H. R.; Tsoi, R.; Cheng, L.; Xiao, M.; You, L. Vertical and horizontal gene transfer tradeoffs direct plasmid fitness. **Molecular Systems Biology**, v. 19, n. 2, e11300, 2023. DOI: <https://doi.org/10.15252/msb.202211300>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9912019/pdf/MSB-19-e11300.pdf>. Acesso em: 26 abr. 2025

Bettera, L.; Dreier, M.; Schmidt, R. S.; Gatti, M.; Berthoud, H.; Bachmann, H. P. Selective enrichment of the raw milk microbiota in cheese production: Concept of a natural adjunct milk culture. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, 1154508, 2023. DOI: [10.3389/fmicb.2023.1154508](https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1154508). Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2023.1154508/full>. Acesso em: 10 jan. 2025.

Bhattacharjee, M. K. **Antibiotics that inhibit protein synthesis**. In: Bhattacharjee, M. K. Chemistry of Antibiotics and Related Drugs. 2. ed. Cham: Springer International Publishing, 2022. Cap. 6, p. 149-177. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-031-07582-7_6. Disponível em: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-031-07582-7>. Acesso em: 16 out. 2025.

Biango-Daniels, M. N.; Wolfe, B. E. American artisan cheese quality and spoilage: A survey of cheesemakers' concerns and needs. **Journal of Dairy Science**, v. 104, p. 6283-6294, 2021. DOI: [10.3168/jds.2020-19345](https://doi.org/10.3168/jds.2020-19345). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030221005324>. Acesso em: 01 fev. 2025.

Bissonnette, L.; Champetier, S.; Buisson, J. P.; Roy, P. H. Characterization of the nonenzymatic chloramphenicol resistance (*cmIA*) gene of the In4 integron of Tn1696: similarity of the product to transmembrane transport proteins. **Journal of Bacteriology**, v. 173, n. 14, p. 4493–4502, 1991. DOI: <https://doi.org/10.1128/jb.173.14.4493-4502.1991>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC208113/pdf/jbacter00104-0257.pdf>. Acesso em: 19 out. 2025.

Blake, K. S.; Xue, Y. P.; Gillespie, V. J.; Fishbein, S. R. S.; Tolia, N. H.; Wenczewicz, T. A.; Dantas, G. The tetracycline resistome is shaped by selection for specific resistance mechanisms by each antibiotic generation. **Nature Communications**, v. 16, 1452, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-025-56425-5>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41467-025-56425-5>. Acesso em: 16 out. 2025.

Boudjerdaa, D.; Lahouela, M. Virulence and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from chicken meat, beef, and raw milk. **Austral Journal of Veterinary Sciences**, v. 54, n. 3, p. 115–125, 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0719-81322022000300115>. Disponível em: https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0719-81322022000300115&script=sci_arttext. Acesso em: 16 nov. 2025.

Boyd, D. A.; Tyler, S.; Christianson, S.; Mcgeer, A.; Muller, M. P.; Willey, B. M.; Bryce, E.; Gardam, M.; Nordmann, P.; Mulvey, M. R. Complete Nucleotide Sequence of a 92-Kilobase Plasmid Harboring the CTX-M-15 Extended-Spectrum Beta-Lactamase Involved in an Outbreak in Long-Term-Care Facilities in Toronto, Canada. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 48, n. 10, p. 3758–3764, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1128/aac.48.10.3758-3764.2004>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15388431/>. Acesso em: 20 out. 2025.

Brasil. 2025. Ministério da Agricultura e Pecuária. **Sistema Brasileiro de Inspeção de Produtos de Origem Animal (SISBI-POA)**. Brasília, DF, 2025. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/defesa-agropecuaria/suasa/sisbi-1>. Acesso em: 01 ago. 2025.

Brasil. 2024a. Ministério da Agricultura e Pecuária. **Indicação Geográfica: dados sobre IGs registradas e produtos típicos potenciais**. Brasília - DF, 2024a. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sustentabilidade/indicacao-geografica/dados-sobre-igs-registradas-e-produtos-tipicos-potenciais/plataforma-de-dados>. Acesso em: 06 jan. 2025.

Brasil. 2024b. Ministério da Saúde. **Surtos de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar no Brasil - Informe 2024b**. Disponível em: <file:///C:/Users/Aislan%20&%20Let%20C3%ADcia/Desktop/Surtos%20de%20Doen%20C3%A7as%20de%20Transmiss%20C3%A3o%20H%20C3%ADdrica%20e%20Alimentar%20no%20Brasil%20-%20Informe%202024.pdf>. Acesso em: 20 jan. 2025.

Brasil. 2024c. Ministério da Agricultura e Pecuária. Portaria MAPA nº 672, de 8 de abril de 2024c. **Estabelece os procedimentos de cadastro no Sistema de Gestão de Serviços de Inspeção (e-Sisbi), as diretrizes e as regras de transição para a integração de Serviços de Inspeção ao Sistema Brasileiro de Inspeção de Produtos de Origem Animal (Sisbi-Poa)**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, ed.

68, seção 1, p. 12, 9 abr. 2024. Disponível em: <https://www.iagro.ms.gov.br/wp-content/uploads/2024/05/PORTARIA-MAPA-No-672-DE-8-DE-ABRIL-DE-2024-PORTARIA-MAPA-No-672-DE-8-DE-ABRIL-DE-2024-DOU-Imprensa-Nacional.pdf>. Acesso em: 01 fev. 2025.

Brasil. 2024d. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Consulta de produtos irregulares: Queijo Parmesão Ralado Sem Desidratar - 1kg, Marca Santa Marta; Queijo Parmesão Ralado Sem Desidratar - 1kg, Marca Buritys.** Brasília: ANVISA, 5 set. 2024d. Disponível em: <https://consultas.anvisa.gov.br/#/dossie/c/?parametroProduto=QUEIJO%20PARMESAO%20RALADO%20SEM%20DESIDRATAR&tiposProduto=6&tipoAssunto=1>. Acesso em: 03 fev. 2025.

Brasil. 2024e. Ministério das Relações Exteriores. **Brazil's Participation in the 79th United Nations General Assembly.** Brasília: MRE, 2024e. Disponível em: <https://www.gov.br/mre/en/contact-us/press-area/press-releases/brazils-participation-in-the-79th-united-nations-general-assembly>. Acesso em: 04 abr. 2025.

Brasil. 2024f. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. **Relação Nacional de Medicamentos Essenciais: Rename 2024.** Brasília: Ministério da Saúde, 2024f. 252 p. ISBN 978-65-5993-710-3. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/relacao_nacional_medicamentos_2024.pdf. Acesso em: 19 out. 2025.

Brasil. 2023a. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente. **Manejo do paciente com diarreia: avaliação do estado de hidratação do paciente.** Brasília: Ministério da Saúde, SVSA, 2023a/2024. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/svsa/doencas-diarreicas-agudas/manejo-do-paciente-com-diarreia-avaliacao-do-estado-do-paciente>. Acesso em: 3 mar. 2025.

Brasil. 2023b. **Antimicrobianos em insumos pecuários.** Brasília: MAPA, 2021. Atualizado em 6 jul. 2023b. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/resistencia-aos-antimicrobianos/legislacao/proibicoes-de-aditivos-na-alimentacao-animal>. Acesso em: 2 abr. 2025.

Brasil. 2022a. Decreto nº 11.099, de 21 de junho de 2022. **Regulamenta o art. 10-A da Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 13.860, de 18 de julho de 2019, para dispor sobre a elaboração e a comercialização de produtos alimentícios de origem animal produzidos de forma artesanal.** Diário Oficial da União, Brasília, DF, 21 jun. 2022a. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/ Ato2019-2022/2022/Decreto/D11099.htm. Acesso em: 01 fev. 2025.

Brasil. 2022b. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Instrução Normativa nº 161, de 1º de julho de 2022. Estabelece os padrões microbiológicos de alimentos.** Brasília: ANVISA, 2022b. Disponível

em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-in-n-161-de-1-de-julho-de-2022-413366880>. Acesso em: 05 fev. 2025.

Brasil. 2022c. Ministério da Saúde. 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 laboratorial de patógenos bacterianos responsáveis por DTA e DDA**. Brasília: Ministério da Saúde, 2022c. 35 p. ISBN 978-65-5993-300-6. Disponível em: http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_coleta_especimes_clinicos_ambientais.pdf. Acesso em: 25 fev. 2025.

Brasil. 2022d. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa - IN N° 162, de 1° de julho de 2022. **Estabelece a ingestão diária aceitável (IDA), a dose de referência aguda (DRfA) e os limites máximos de resíduos (LMR) para insumos farmacêuticos ativos (IFA) de medicamentos veterinários**. Brasília, DF, 2022d. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animal/plano-de-nacional-de-controle-de-residuos-e-contaminantes/instrucao-normativa-anvisa-2022_162.pdf/view. Acesso em: 9 nov. 2025.

Brasil. 2021. Ministério da Agricultura e Pecuária. **Manual técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT)**. Brasília, DF: MAPA, 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/pncebt>. Acesso em: 01 fev. 2025.

Brasil. 2020. Decreto nº 10.468, de 18 de agosto de 2020. **Altera o Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017, que regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre o regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 18 ago. 2020. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/ato2019-2022/2020/decreto/d10468.htm. Acesso em: 01 fev. 2025.

Brasil. 2019. Lei nº 13.860, de 18 de julho de 2019. **Dispõe sobre a elaboração e a comercialização de queijos artesanais e dá outras providências**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 18 jul. 2019. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/ato2019-2022/2019/lei/L13860.htm. Acesso em: 01 fev. 2025.

Brasil. 2017a. Decreto Nº 9.013, de 29 de março de 2017. **Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 30 mar. 2017a. Disponível em: <https://www2.camara.leg.br/legin/fed/decret/2017/decreto-9013-29-marco-2017-784536-norma-actualizada-pe.pdf>. Acesso em: 10 jan. 2025.

Brasil. 2017b. Ministério da Saúde. Portaria de Consolidação GM/MS nº 4, de 28 de setembro de 2017. **Consolida as normas sobre os sistemas e subsistemas do Sistema Único de Saúde**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 28 set. 2017b.

Atualizada em 31 out. 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/z/zika-virus/legislacao/portaria-de-consolidacao-no-4-de-28-de-setembro-de-2017.pdf>. Acesso em: 20 jan. 2025.

Brasil. 2017c. Ministério da Agricultura e Pecuária. **Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT)**. Brasília, DF, 2017c. Atualizado em 7 out. 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/pncebt/controle-e-erradicacao-da-brucelose-e-tuberculose-pncebt>. Acesso em: 01 fev. 2025.

Brasil. 2016. Ministério da Agricultura e Pecuária. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa n. 23, de 22 de dezembro de 2016. **Estabelece os critérios e procedimentos necessários para as alterações de registro de produto de uso veterinário de natureza farmacêutica e biológica**. Brasília, DF, 2016. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/produtos-veterinarios/legislacao-1/instrucoes-normativas/instrucao-normativa-sda-mapa-ndeg-23-de-22-12-2016.pdf>. Acesso em: 17 nov. 2025.

Brasil. 2014. Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional. **Dossiê do queijo de Minas artesanal: patrimônio cultural do Brasil**. Brasília, DF: IPHAN, 2014. ISBN: 978-85-7334-244-4. Disponível em: http://portal.iphan.gov.br/uploads/publicacao/Dossie_Queijo_de_Minis_web.pdf. Acesso em: 08 jan. 2025.

Brasil. 2011. Ministério da Agricultura e Pecuária. Gabinete do Ministro. Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. **Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade do Leite Cru Refrigerado, Leite Pasteurizado e Leite UHT (UAT)**. Brasília, DF, [2011]. 24 f. Disponível em: <https://bibliodigital.unijui.edu.br/items/3bf6cfa6-b26e-4931-b09a-cb68bda1dbe1>. Acesso em: 9 nov. 2025.

Brasil. 2006. Ministério da Cultura. Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional. **Queijo artesanal de Minas: patrimônio cultural do Brasil: dossiê interpretativo**. Organização: José Newton Coelho Meneses. Belo Horizonte: IPHAN, 2006. v. 1. (Inventário Nacional de Referências Culturais. Ofícios e modos de fazer). Disponível em: http://portal.iphan.gov.br/uploads/ckfinder/arquivos/Dossie_modos_fazer_queijo_minas.pdf. Acesso em: 07 jan. 2025.

Brasil. 2004. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA). **Manual de boas práticas agropecuárias e sistema APPCC**. Brasília: EMBRAPA/SEDE, 2004. 123 p. (Qualidade e Segurança dos Alimentos). Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/111887/1/agropecuaria1.pdf>. Acesso em: 05 fev. 2025.

Brasil. 1997. Ministério da Agricultura e Pecuária. Portaria nº 352, de 4 de setembro de 1997. **Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijo Minas Frescal**. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 08 set. 1997. Disponível

em: <https://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/legislacoes/portaria-ma-352-de-04-09-1997%2C644.html>. Acesso em: 8 jan. 2025.

Braz, V. S.; Melchior, K.; Moreira, C. G. *Escherichia coli* as a multifaceted pathogenic and versatile bacterium. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 10, art. 548492, 2020. DOI: [10.3389/fcimb.2020.548492](https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.548492). Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fcimb.m2020.548492>. Acesso em: 20 fev. 2025.

Bui, T.; Patel, P.; Preuss, C. V. **Cephalosporins**. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551517/>. Acesso em: 15 out. 2025.

Bush, K.; Bradford, P. A. β -Lactams and β -Lactamase inhibitors: an overview. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 6, n. 8, p. a025247, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025247>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4968164/pdf/cshperspectmed-ANR-a025247.pdf>. Acesso em: 11 out. 2025.

Bush, N. G.; Diez-Santos, I.; Abbott, L. R.; Maxwell, A. Quinolones: mechanism, lethality and their contributions to antibiotic resistance. **Molecules**, v. 25, n. 23, p. e5662, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules25235662>. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules25235662>. Acesso em: 18 out. 2025.

Bustamante, M.; Mei, S.; Daras, I. M.; Van Doorn, G. S.; Falcao Salles, J.; De Vos, M. G. J. An eco-evolutionary perspective on antimicrobial resistance in the context of One Health. **Science**, v. 28, n. 6, 111534, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.isci.2024.111534>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11719859/pdf/main.pdf>. Acesso em: 25 abr. 2025.

Cabrera, A.; Mason, E.; Mullins, L. P.; Sadarangani, M. Antimicrobial resistance and vaccines in Enterobacteriaceae including extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. **NPJ Antimicrobial Resistance**, v. 3, n. 1, 34 p., 2025. DOI: <https://doi.org/10.1038/s44259-025-00100-8>. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC12037890/pdf/44259_2025_Article_100.pdf. Acesso em: 15 set. 2025.

Camargo, A. C.; Araújo, J. P. A.; Fusieger, A.; Carvalho, A. F.; Nero, L. A. Microbiological quality and safety of Brazilian artisanal cheeses. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 52, p. 393-409, 2021. DOI: [10.1007/s42770-020-00416-9](https://doi.org/10.1007/s42770-020-00416-9). Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s42770-020-00416-9>. Acesso em: 02 fev. 2025.

Candeliere, F.; Arumugam, M.; Clayssen, Q.; Tarrade, A.; Cannillo, M.; Jimenez, N.; Plaisancené, L.; Le Chatelier, E.; Tap, J.; Lepage, P. β -Glucuronidase pattern predicted from gut metagenomes indicates niche specialisation across hum/an populations. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 1-16, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.826994>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2022.826994/pdf>. Acesso em: 25 nov. 2025.

Cantón, R.; González-Alba, J. M.; Galán, J. C. CTX-M enzymes: origin and diffusion. **Frontiers in Microbiology**, v. 3, n. p. 110, 2012. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00110>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2012.00110/full>. Acesso em: 16 out. 2025.

Cardamone, C.; Castello, A.; Oliveri, G.; Costa, A.; Sciortino, S.; Nia, Y.; Hennekinne, J. A.; Romano, A.; Zuccon, F.; Decastelli, L. Staphylococcal food poisoning outbreaks occurred in Sicily (Italy) from 2009 to 2016. **Italian Journal of Food Safety**, v. 13, n. 2, 2024. DOI: [10.4081/ijfs.2024.11667](https://doi.org/10.4081/ijfs.2024.11667). Disponível em: <https://www.pagepressjournals.org/ijfs/article/view/11667>. Acesso em: 16 fev. 2025.

Cardona, S. T.; Rahman, A. S. M. Z.; Novomisky Nechcoff, J. Innovative perspectives on the discovery of small molecule antibiotics. **NPJ Antimicrobial Resistance**, v. 3, n. 19, 11 p. 2025. DOI: <https://doi.org/10.1038/s44259-025-00089-0>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s44259-025-00089-0>. Acesso em: 4 abr. 2025.

Cardozo, M. V.; Nespolo, N.; Delfino, T. C.; Almeida, C. C.; Pizauro, L. J. L.; Valmorbida, M. K.; Pereira, N.; Ávila, F. A. Raw milk cheese as a potential infection source of pathogenic and toxigenic foodborne pathogens. **Food Science and Technology**, v. 41, n. 2, p. 355–358, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1590/fst.37919>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cta/a/wbBJbTMmmp6jgrygsWckmKb/?format=html&lang=en>. Acesso em: 17 nov. 2025.

Carneiro Aguiar, R. A.; Ferreira, F. A.; Dias, R. S.; Nero, L. A.; Miotto, M.; Verruck, S.; De Marco, I.; De Dea Lindner, J. Graduate student literature review: Enterotoxigenic potential and antimicrobial resistance of Staphylococci from Brazilian artisanal raw milk cheeses. **Journal of Dairy Science**, v. 105, n. 7, p. 5685–5699, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2021-21634>. Disponível em: [https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(22\)00317-4/fulltext](https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(22)00317-4/fulltext). Acesso em: 17 nov. 2025.

Castanheira, M.; Simner, P. J.; Bradford, P. A. Extended-spectrum-lactamases: An update on their characteristics, epidemiology and detection. **JAC-Antimicrobial Resistance**, v. 3, n. 3, p. dlab092, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1093/jacamr/dlab092>. Disponível em: <https://academic.oup.com/jacamr/article/3/3/dlab092/6322891>. Acesso em: 16 out. 2025.

Castro, C. **Brazil: Dairy and Products Annual**. [S. l.]: USDA, 2023. Disponível em: <https://www.fas.usda.gov/data/brazil-dairy-and-products-annual-10>. Acesso em: 17 nov. 2025.

Catania, A. M.; Stella, M. C.; Cimino, F.; Zoppi, S.; Grego, E. Sulfonamide resistance evaluation in five animal species and first report of *sul4* in companion animals. **Veterinary Microbiology**, v. 296, p. 110170, 2024. DOI: [10.1016/j.vetmic.2024.110170](https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2024.110170). Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2024.110170>. Acesso em: 17 nov. 2025.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). **Investigation update: *Listeria* outbreak, queso fresco and cotija cheese - February 2024**. Atlanta: CDC, 2025. Disponível em: <https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/cheese-02-24/investigation.html>. Acesso em: 03 fev. 2025.

Chacón-Flores, N. A.; Olivas-Orozco, G. I.; Acosta-Muñiz, C. H.; Gutiérrez-Méndez, N.; Sepúlveda-Ahumada, D. R. Effect of water activity, pH, and lactic acid bacteria to inhibit *Escherichia coli* during Chihuahua cheese manufacture. **Foods**, v. 12, n. 20, 3751, 2023. DOI: [10.3390/foods12203751](https://doi.org/10.3390/foods12203751). Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10606664/>. Acesso em: 16 jun.

Chaudhary, M. K.; Jadhav, I.; Banjara, M. R. Molecular detection of plasmid mediated *bla*TEM, *bla*CTX-M, and *bla*SHV genes in Extended Spectrum -Lactamase (ESBL) *Escherichia coli* from clinical samples. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 22, n. 33, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12941-023-00584-0>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37147617/>. Acesso em: 15 out. 2025.

Chavan, P.; Vashishth, R. Antimicrobial resistance in foodborne pathogens: consequences for public health and future approaches. **Discovery Applied Sciences**, v. 7, p. 623, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1007/s42452-025-07015-z>. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s42452-025-07015-z>. Acesso em: 19 out. 2025.

Chekole, W. S.; Potgieter, L.; Adamu, H.; Sternberg-Lewerin, S.; Tessema, T. S.; Magnusson, U. Genomic insights into antimicrobial resistance and virulence of *E. coli* in central Ethiopia: a one health approach. **Frontiers in Microbiology**, v. 16, p. e1597580, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1597580>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2025.1597580/full>. Acesso em: 11 out. 2025.

Chen, C. C.; Chen, L. Y.; Li, W. T.; Chang, K. L.; Kuo, M. I.; Chen, C. J.; Hsieh, J. F. Influence of chymosin on physicochemical and hydrolysis characteristics of casein micelles and individual caseins. **Nanomaterials**, v. 11, n. 10, p. 2594, 2021. DOI: [10.3390/nano11102594](https://doi.org/10.3390/nano11102594). Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8539682/>. Acesso em: 12 jan. 2025.

Chhablani, A.; Jain, V.; Maksana, J. Sulfonamides: historical perspectives, therapeutic insights, applications, challenges, and synthetic strategies. **ChemistrySelect**, v. 10, n. 29, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1002/slct.202502122>. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/slct.202502122>. Acesso em: 20 out. 2025.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). **M02: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing**. 14th ed. Wayne, PA: CLSI, 2024.

Coelho, M. C.; Malcata, F. X.; Silva, C. C. G. Lactic acid bacteria in raw-milk cheeses: from starter cultures to probiotic functions. **Foods**, v. 11, n. 15, 2276, 2022. DOI: [10.3390/foods11152276](https://doi.org/10.3390/foods11152276). Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9368153/>. Acesso em: 14 jan. 2025.

Collin, F.; Noll, D. M.; Montgomery, M. A.; Sullivan, S. M.; Feldman, A. R. Exploiting bacterial DNA gyrase as a drug target. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 91, p. 479–497, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3557-z>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-011-3557-z>. Acesso em: 29 dez. 2025.

Collins, J. A.; Osheroff, N. Gyrase and Topoisomerase IV: Recycling old targets for new antibacterials to combat fluoroquinolone resistance. **ACS Infectious Diseases**, v. 10, n. 4, p. 1097–1115, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.4c00128?urlappend=%3Fref%3DPDF&jav=VoR&rel=cite-as>. Disponível em: https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/acsinfecdis.4c00128?ref=article_openPDF. Acesso em: 18 out. 2025.

Cortimiglia, C.; Borney, M. F.; Bassi, D.; Cocconcelli, P. S. Genomic investigation of virulence potential in Shiga toxin *Escherichia coli* (STEC) strains from a semi-hard raw milk cheese. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, art. 629189, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.629189>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2020.629189/full>. Acesso em: 21 fev. 2025.

Costanzo, N.; Ceniti, C.; Santoro, A.; Clausi, M. T.; Casalinnovo, F. Foodborne pathogen assessment in raw milk cheeses. **International Journal of Food Science**, v. 2020, p. 1-5, 2020. DOI: [10.1155/2020/3616713](https://doi.org/10.1155/2020/3616713). Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/ijfs/2020/3616713/>. Acesso em: 2 fev. 2025.

D'Amico, D. J. Recommendations and outcomes from the first artisan cheese food safety forum. **Food Protection Trends**, v. 37, n. 5, p. 332-339, 2017. Disponível em: <https://www.foodprotection.org/files/food-protection-trends/sep-oct-17-damico.pdf>. Acesso em: 1 fev. 2025.

De Campos, A. C. L. P.; Puño-Sarmiento, J. J.; Medeiros, L. P.; Gazal, L. E. S.; Maluta, R. P.; Navarro, A.; Kobayashi, R. K. T.; Fagan, E. P.; Nakazato, G. Virulence genes and antimicrobial resistance in *Escherichia coli* from cheese made from unpasteurized milk in Brazil. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 15, n. 2, p. 94–100, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1089/fpd.2017.2345>. Disponível em: <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/fpd.2017.2345>. Acesso em: 15 nov. 2025.

De Groot, D. H.; Tjalma, A. J.; Bruggeman, F. J.; Van Nimwegen, E. Effective bet-hedging through growth rate dependent stability. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 120, n. 8, e2211091120, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.2211091120>. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.2211091120>. Acesso em: 12 nov. 2025.

De Luca, V.; Perotti, M. C.; Wolf, I. V.; Meinardi, C. A.; Mandrich, L. The addition of the thermophilic esterase EST2 influences the fatty acids and volatile compound profiles of semi hard cheeses. **Food Science and Technology**, v. 39, n. 3, p. 711 - 720, 2019. DOI: [10.1590/fst.06018](https://doi.org/10.1590/fst.06018). Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cta/a/nZWNVZ9HKqvZs4GjnzH5H8P/>. Acesso em: 12 jan. 2025.

De Rosa, M.; Verdino, A.; Soriente, A.; Marabotti, A. The odd couple(s): an overview of beta-lactam antibiotics bearing more than one pharmacophoric group. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 2, p. 617, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22020617>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7826672/pdf/ijms-22-00617.pdf>. Acesso em: 14 out. 2025.

Dean, C. R.; Barkan, D. T.; Bermingham, A.; Blais, J.; Casey, F.; Casarez, A.; Colvin, R.; Fuller, J.; Jones, A. K.; Li, C.; Lopez, S.; Metzger, L. E. 4th; Mostafavi, M.; Prathapam, R.; Rasper, D.; Reck, F.; Ruzin, A.; Shaul, J.; Shen, X.; Simmons, R. L.; Skewes-Cox, P.; Takeoka, K. T.; Tamrakar, P.; Uehara, T.; Wei, J. R. Mode of action of the monobactam LYS228 and mechanisms decreasing *in vitro* susceptibility in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 62, n. 10, p. e01200-18, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1128/AAC.01200-18>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6153799/pdf/e01200-18.pdf>. Acesso em: 15 out. 2025.

Deekshit, V. K.; Srikumar, S. 'To be, or not to be'—The dilemma of 'silent' antimicrobial resistance genes in bacteria. **Journal of Applied Microbiology**, v. 133, n. 5, p. 2902–2914, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1111/jam.15738>. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jam.15738>. Acesso em: 10 nov. 2025.

Degenhardt, R.; Carvalho, M. M.; Voidaleski, M. F.; Daros, G. F.; Guaragni, A.; Pereira, G. V. M.; Lindner, J. D. Brazilian artisanal Colonial cheese: characterization, microbiological safety, and survival of *Salmonella* enterica serovar Enteritidis during ripening. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 54, n. 3, p. 2129-2135, 2023. DOI: [10.1007/s42770-023-01022-1](https://doi.org/10.1007/s42770-023-01022-1). Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s42770-023-01022-1>. Acesso em: 22 jan. 2025.

Dehkordi, F. S.; Yazdani, F.; Mozafari, J.; Valizadeh, Y. Virulence factors, serogroups and antimicrobial resistance properties of *Escherichia coli* strains in fermented dairy products. **BMC Research Notes**, v. 7, n. 217, 2014. DOI: [10.1186/1756-0500-7-217](https://doi.org/10.1186/1756-0500-7-217). Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1756-0500-7-217>. Acesso em: 14 nov. 2025.

Dela Justina, M.; Dela Justina, M. B.; Skoronski, E. O uso das enzimas na indústria de laticínios: uma breve revisão. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 73, n. 3, p. 172-184, 2018. DOI: [10.14295/2238-6416.v73i3.679](https://doi.org/10.14295/2238-6416.v73i3.679). Disponível em: <https://www.revistadoilct.com.br/rilct/article/view/679/481>. Acesso em: 12 jan. 2025.

Diniz Neto, H. C.; Coelho, S. G.; Campolina, J. P.; Vieira, S. F.; Lombardi, M. C.; Pereira, B. P.; Albuquerque, B. S. F.; Costa, S. F.; Guimarães, A. S.; Brito, M. A. V. P.; Silva, C. S.; Machado, F. S.; Tomich, T. R.; Campos, M. M. Effects of bulk tank milk, waste milk, and pasteurized waste milk on the nutrient utilization, gastrointestinal tract development, and antimicrobial resistance to *Escherichia coli* in preweaning dairy calves. **Journal of Dairy Science**, v. 107, p. 6852-6865, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2024-24674>. Disponível em: <https://doi.org/10.3168/jds.2024-24674>. Acesso em: 9 nov. 2025.

Dong, X.; Wang, P.; Darby, J. P.; Tang, Y.; Overton, C. M.; Kathariou, S.; Sun, Y.; Yang, L. Photoactivated carbon dots for inactivation of foodborne pathogens *Listeria* and *Salmonella*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 87, n. 16, p. e01042-21, 2021. DOI: [10.1128/AEM.01042-21](https://doi.org/10.1128/AEM.01042-21). Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/aem.01042-21>. Acesso em: 20 fev. 2025.

Draeger, C. L.; Akutsu, R. C. C. A.; Zandonadi, R. P.; Silva, I. C. R.; Botelho, R. B. A.; Araújo, W. M. C. Brazilian Foodborne Disease National Survey: evaluating the landscape after 11 years of implementation to advance research, policy, and practice in public health. **Nutrients**, v. 11, n. 1, p. 40, 2019. DOI: [10.3390/nu11010040](https://doi.org/10.3390/nu11010040). Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6643/11/1/40>. Acesso em: 21 jan. 2025.

Drugbank. **Sulfonamides Category (DBCAT000514)**. DrugBank, [2025]. Disponível em: <https://go.drugbank.com/categories/DBCAT000514>. Acesso em: 20 out. 2025.

Duan, Y.; Gao, H.; Zheng, L.; Liu, S.; Cao, Y.; Zhu, S.; Wu, Z.; Ren, H.; Mao, D.; Luo, Y. Antibiotic resistance and virulence of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC) vary according to molecular types. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, art. 598305, 2020. DOI: [10.3389/fmicb.2020.598305](https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.598305). Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2020.598305/full>. Acesso em: 20 fev. 2025.

Dube, P. S.; Legoabe, L. J.; Beteck, R. M. Quinolone: a versatile therapeutic compound class. **Molecular Diversity**, v. 27, n. 3, p. 1501–1526, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11030-022-10581-8>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11030-022-10581-8>. Acesso em: 18 out. 2025.

Duensing, P. W.; Hinrichs, J.; Schieberle, P. Formation of key aroma compounds during 30 weeks of ripening in Gouda-type cheese produced from pasteurized and raw milk. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 72, n. 19, p. 11072-11079, 2024. DOI: [10.1021/acs.jafc.4c01814](https://doi.org/10.1021/acs.jafc.4c01814). Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jafc.4c01814>. Acesso em: 14 jan. 2025.

EFSA. Biohaz Panel; Koutsoumanis, K.; Allende, A.; Alvarez-Ordóñez, A.; Bover-Cid, S.; Chemaly, M.; Davies, R.; De Cesare, A.; Herman, L.; Hilbert, F.; Lindqvist, R.; Nauta, M.; Peixe, L.; Ru, G.; Simmons, M.; Skandamis, P.; Suffredini, E.; Jenkins, C.; Monteiro Pires, S.; Morabito, S.; Niskanen, T.; Scheutz, F.; Da Silva Felício, M. T.; Messens, W.; Bolton, D. Pathogenicity assessment of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and the public health risk posed by contamination of food with STEC. **EFSA Journal**, v. 18, n. 1, e05967, 2020. DOI: [10.2903/j.efsa.2020.5967](https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.5967). Disponível em: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2020.5967>. Acesso em: 21 fev. 2025.

Elder, J. R.; Fratamico, P. M.; Liu, Y.; Needleman, D. S.; Bagi, L.; Tebbs, R.; Allred, A.; Siddavatam, P.; Suren, H.; Gujjula, K. R.; DebRoy, C.; Dudley, E. G.; Yan, X. A targeted sequencing assay for serotyping *Escherichia coli* using AgriSeq technology. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, e627997, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.627997>. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.627997>. Acesso em: 13 out. 2025.

Eldesoukey, I. E.; Elmonir, W.; Alouffi, A.; Beleta, E. I. M.; Kelany, M. A.; Elnahriry, S. S.; Alghonaim, M. I.; Alzeyadi, Z. A.; Elaadli, H. Multidrug-resistant enteropathogenic *Escherichia coli* isolated from diarrhoeic calves, milk, and workers in dairy farms: A potential public health risk. **Antibiotics**, v. 11, n. 8, 999, 2022. DOI: <https://www.mdpi.com/2079-6382/11/8/999#>. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antibiotics11080999>. Acesso em: 10 nov. 2025.

Elsharkawy, S. A.; Latif, H.; Purnawarman, T.; Rahayu, P. Analysis of β -lactam antibiotic resistance genes in *Escherichia coli* isolated from dairy cattle manure in Bogor, Indonesia. **German Journal of Veterinary Research**, v. 4, n. 3, p. 16–23, 2024. DOI: <https://gmipc-akademie.de/journals/gjvr>. Disponível em: https://www.gmipc-akademie.de/articles/1721645519_gjvr-4-3-16%20.pdf?utm_. Acesso em: 16 nov. 2025.

EMBRAPA. **Queijos artesanais brasileiros**. 2021, 16 p. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/226359/1/Queijos-artesanais-brasileiros.pdf>. Acesso em: 06 jan. 2025.

European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). **Rapid outbreak assessment: prolonged multi-country outbreak of *Listeria monocytogenes* ST1607 linked to smoked salmon products**. Stockholm: ECDC, 2024. Disponível em: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/rapid-outbreak-assessment-prolonged-multi-country-outbreak-listeria-monocytogenes>. Acesso em: 03 fev. 2025.

European Food Safety Authority (EFSA). European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). The European Union One Health 2023 Zoonoses Report. **EFSA Journal**, v. 22, n. 12, e09106, 2024. DOI: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2024.9106>. Disponível em: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2024.9106>. Acesso em: 9 out. 2025.

European Food Safety Authority (EFSA). 2024a. **FBO dashboard**. Parma: EFSA, 2024a. Disponível em: <https://www.efsa.europa.eu/en/microstrategy/FBO-dashboard>. Acesso em: 21 jan. 2025.

European Food Safety Authority (EFSA). 2024b. **PLS: The European Union One Health 2023 Zoonoses Report**. Parma, 10 dez. 2024b. Disponível em: <https://www.efsa.europa.eu/en/plain-language-summary/european-union-one-health-2023-zoonoses-report>. Acesso em: 21 jan. 2025.

European Medicines Agency (Ema); Antimicrobial Advice Ad Hoc Expert Group (Ameg). **Categorisation of antibiotics in the European Union – Answer to the request from the European Commission for updating the scientific advice on the impact on public health and animal health of the use of antibiotics in animals**. EMA, 2018. Disponível em: https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/categorisation-antibiotics-european-union-answer-request-european-commission-updating-scientific-advice-impact-public-health-animal-health-use-antibiotics-animals_en.pdf. Acesso em: 17 nov. 2025.

Evans, E. W.; Redmond, E. C. Domestic kitchen microbiological contamination and self-reported food hygiene practices of older adult consumers. **Journal of Food**

Protection, v. 82, n. 8, p. 1326-1335, 2019. DOI: [10.4315/0362-028X.JFP-18-533](https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-18-533). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0362028X22098660?via%3Dihub>. Acesso em: 02 fev. 2025.

Fang, J.; Shen, Y.; Qu, D.; Han, J. Antimicrobial resistance profiles and characteristics of integrons in *Escherichia coli* strains isolated from a large-scale centralized swine slaughterhouse and its downstream markets in Zhejiang, China. **Food Control**, v. 95, p. 215–222, 2019. DOI: [10.1016/j.foodcont.2018.08.017](https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.08.017). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956713518303992?via%3Dihub>. Acesso em: 17 nov. 2025.

Feng, P.; Weagant, S. D.; Grant, M. A.; Burkhardt, W. **Enumeration of *Escherichia coli* and the coliform bacteria**. In: United States. Food and Drug Administration (FDA). *Bacteriological Analytical Manual (BAM)*. Silver Spring, MD, 2020. Disponível em: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-4-enumeration-escherichia-coli-and-coliform-bacteria>. Acesso em: 14 abr. 2025.

Fei, Z.; Song, S.; Yang, X.; Jiang, D.; Gao, J.; Yang, D. Occurrence and risk assessment of fluoroquinolone residues in chicken and pork in China. **Antibiotics**, v. 11, n. 10, p.1292, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics11101292>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-6382/11/10/1292>. Acesso em: 18 out. 2025.

Ferdinand, A. S.; Mcewan, C.; Lin, C.; Betham, K.; Kandan, K.; Tamolsaian, G.; Pugeva, B.; Mckenzie, J.; Browning, G.; Gilkerson, J.; Coppo, M.; James, R.; Peel, T.; Levy, S.; Townell, N.; Jenney, A.; Stewardson, A.; Cameron, D.; Macintyre, A.; Busing, K.; Howden, B. P. Development of a cross-sectoral antimicrobial resistance capability assessment framework. **BMJ Global Health**, v. 9, art. e013280, 2024. DOI: [10.1136/bmjgh-2023-013280](https://doi.org/10.1136/bmjgh-2023-013280). Disponível em: <https://doi.org/10.1136/bmjgh-2023-013280>. Acesso em: 02 abr. 2025.

Finger, J. A. F. F.; Baroni, W. S. G. V.; Maffei, D. F.; Bastos, D. H. M.; Pinto, U. M. Overview of foodborne disease outbreaks in Brazil from 2000 to 2018. **Foods**, v. 8, n. 10, p. 434, 2019. DOI: [10.3390/foods8100434](https://doi.org/10.3390/foods8100434). Disponível em: <https://www.mdpi.com/2304-8158/8/10/434>. Acesso em: 21 jan. 2025.

Flórez, A. B.; Mayo, B. A functional metagenomic analysis of tetracycline resistance in cheese bacteria. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 907, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00907>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2017.00907/full>. Acesso em: 17 out. 2025.

Fong, I. W. New Cephalosporins: Fifth and Sixth Generations. In: **New Antimicrobials: For the Present and the Future**. Springer, 2023. Cap. 2. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-031-26078-0_2. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/371061410_New_Cephalosporins_Fifth_and_Sixth_Generations. Acesso em: 15 out. 2025.

Formenti, N.; Martinelli, C.; Vitale, N.; Giovannini, S.; Salogni, C.; Tonni, M.; Scali, F.; Birbes, L.; D'incau, M.; Guarneri, F.; Pasquali, P.; Alborali, G. L. Antimicrobial

resistance of *Escherichia coli* in dairy calves: a 15-year retrospective analysis and comparison of treated and untreated animals. **Animals**, v. 11, n. 8, 2328, 2021. DOI: [10.3390/ani11082328](https://doi.org/10.3390/ani11082328). Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ani11082328>. Acesso em: 17 nov. 2025.

Galgano, M.; Pellegrini, F.; Catalano, E.; Capozzi, L.; Del Sambro, L.; Sposato, A.; Lucente, M. S.; Vasinioti, V. I.; Catella, C.; Odigie, A. E.; Tempesta, M.; Pratelli, A.; Capozza, P. Acquired bacterial resistance to antibiotics and resistance genes: from past to future. **Antibiotics**, v. 14, n. 3, 34 p., 2025. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics14030222>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-6382/14/3/222>. Acesso em: 05 mai. 2025.

Gao, J.; Wu, Y.; Ma, X.; Xu, X.; Tuerdi, A.; Shao, W.; Zheng, N.; Zhao, Y. Prevalent and drug-resistant phenotypes and genotypes of *Escherichia coli* isolated from healthy cow's milk of large-scale dairy farms in China. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 26, n. 2, p. 454, 2025. DOI: [10.3390/ijms26020454](https://doi.org/10.3390/ijms26020454). Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms26020454>. Acesso em: 17 nov. 2025.

George, A. M.; Hall, R. M. Efflux of chloramphenicol by the CmlA1 protein. **FEMS Microbiology Letters**, v. 209, n. 2, p. 209–213, 2002. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(02\)00558-X](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(02)00558-X). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S037810970200558X>. Acesso em: 19 out. 2025.

Ghafoori, S. M.; Robles, A. M.; Arada, A. M.; Shirmast, P.; Dranow, D. M.; Mayclin, S. J.; Lorimer, D. D.; Myler, P. J.; Edwards, T. E.; Kuhn, M. L.; Forwood, J. K. Structural characterization of a Type B chloramphenicol acetyltransferase from the emerging pathogen *Elizabethkingia anophelis* NUHP1. **Scientific Reports**, v. 11, p. 9453, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-88672-z>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-021-88672-z>. Acesso em: 19 out. 2025.

Gonçalves, M. C.; Cardarelli, H. R. Mozzarella cheese stretching: a review. **Food Technology and Biotechnology**, v. 59, n. 1, p. 82 - 91, 2021. DOI: [10.17113/ftb.59.01.21.6707](https://doi.org/10.17113/ftb.59.01.21.6707). Disponível em: <https://www.ftb.com.hr/archives/1702-mozzarella-cheese-stretching-a-review>. Acesso em: 12 jan. 2025.

Governo do Distrito Federal. 2024a. Secretaria de Saúde do Distrito Federal. Subsecretaria de Vigilância em Saúde. Diretoria de Vigilância Epidemiológica. Gerência de Vigilância das Doenças Imunopreveníveis e de Transmissão Hídrica e Alimentar. **Informativo Epidemiológico 2024: Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar**. Brasília, DF, 2024a. Disponível em: <https://www.saude.df.gov.br/documents/37101/0/BOLETIM+DTHA+2024+final.pdf/93686e07-6ba9-a297-ffb2-590275c65caf?t=1746640319928>. Acesso em: 15 jan. 2025.

Governo do Distrito Federal. 2024b. Secretaria de Estado de Saúde. Diretoria de Vigilância Epidemiológica. Gerência de Vigilância das Doenças Imunopreveníveis e de Transmissão Hídrica e Alimentar. **Nota informativa nº 8/2024 - SES/SVS/DIVEP/GEVITHA: intoxicação alimentar x investigação exógena**.

Brasília, DF: SES-DF, 2024b. Disponível em: <https://www.saude.df.gov.br/documents/37101/0/Nota+Informativa+n.%C2%BA+8.+2024+-+GEVITHA.pdf/35d0eb4f-e0c6-d40d-4880-5d0b25ae4365>. Acesso em: 19 jan. 2025.

Graf, F. E.; Goodman, R. N.; Gallichan, S.; Forrest, S.; Picton-Barlow, E.; Fraser, A. J.; Phan, M-D.; Mphasa, M.; Hubbard, A. T. M.; Musicha, P.; Schembri, M. A.; Roberts, A. P.; Edwards, T.; Lewis, J. M.; Feasey, N. A. Molecular mechanisms of re-emerging chloramphenicol susceptibility in extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacterales. **Nature Communications**, v. 15, p. 9019, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-024-53391-2>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41467-024-53391-2>. Acesso em: 19 out. 2025.

Greenwood, D.; O'grady, F. Scanning electron microscopy of *Staphylococcus aureus* exposed to some common anti-staphylococcal agents. **Journal of General Microbiology**, v. 70, p. 263–270, 1972. DOI: <https://doi.org/10.1099/00221287-70-2-263>. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/00221287-70-2-263>. Acesso em: 15 fev. 2025.

Gundran, R. S.; Cardenio, P. A.; Villanueva, M. A.; Sison, F. B.; Benigno, C. C.; Kreausukon, K.; Pichpol, D.; Punyapornwithaya, V. Prevalence and distribution of blaCTX-M, blaSHV, blaTEM genes in extended- spectrum beta-lactamase- producing *E. coli* isolates from broiler farms in the Philippines. **BMC Veterinary Research**, v. 15, n. 227, p. 1-10, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12917-019-1975-9>. Disponível em: <https://bmcvetres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12917-019-1975-9>. Acesso em: 20 out. 2025.

Gustafsson, K.; Sykes, B. W.; Verwilghen, D.; Palmers, K.; Sullivan, S.; Van Galen, G. Trimethoprim-sulfonamide: a valid antimicrobial treatment option for food-producing or companion animals? **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 262, n. 6, p. 825–833, 2024. DOI: <https://doi.org/10.2460/javma.23.09.0536>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38479105/>. Acesso em: 17 nov. 2025.

Halawa, E. M.; Fadel, M.; Al-Rabia, M. W.; Behairy, A.; Nouh, N. A.; Abdo, M.; Olga, R.; Fericean, L.; Atwa, A. M.; El-Nablaway, M.; Abdeen, A. Antibiotic action and resistance: updated review of mechanisms, spread, influencing factors, and alternative approaches for combating resistance. **Frontiers in Pharmacology**, v. 14, p. 1305294, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1305294>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10820715/pdf/fphar-14-1305294.pdf>. Acesso em: 14 out. 2025.

Han, N.; Peng, X.; Zhang, T.; Qiang, Y.; Li, X.; Zhang, W. Rapid turnover and short-term blooms of *Escherichia coli* in the human gut. **Journal of Bacteriology**, v. 206, n. 1, p. e00239-23, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1128/jb.00239-23>. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/jb.00239-23>. Acesso em: 1 mar. 2025.

Hardie Boys, M. T.; Pletzer, D. A review of recently discovered mechanisms of cephalosporin resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 66, n. 2, p. 107527, 2025. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2025.107527>. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2025.107527>. Acesso em: 13 out. 2025.

Hassanein, M. M. Sulfonamides: far from obsolete. **International Journal of Contemporary Pediatrics**, v. 6, n. 6, p. 2740–2745, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.18203/2349-3291.ijcp20194768>. Disponível em: <https://www.ijpediatrics.com/index.php/ijcp/article/view/2847>. Acesso em: 20 out. 2025.

Hassanien, A. A.; Shaker, E. M. Investigation of the effect of chitosan and silver nanoparticles on the antibiotic resistance of *Escherichia coli* O157:H7 isolated from some milk products and diarrheal patients in Sohag city, Egypt. **Veterinary World**, v. 13, n. 8, p. 1647–1653, 2020. DOI: <http://www.doi.org/10.14202/vetworld.2020.1647-1653>. Disponível em: <https://www.veterinaryworld.org/Vol.13/August-2020/23.html>. Acesso em: 12 nov. 2025.

Heinsbroek, E.; Blakey, E.; Simpson, A.; Verlander, N. Q.; Greig, D. R.; Jorgensen, F.; Nelson, A.; Douglas, A.; Balasegaram, S.; Jenkins, C.; Elson, R. An outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* serotype O103:H2 associated with unpasteurized soft cheese, England and Wales, 2022. **Epidemiology and Infection**, v. 152, e172, 2025. DOI: [10.1017/S0950268824001523](https://doi.org/10.1017/S0950268824001523). Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/services/aop-cambridge-core/content/view/7D82185D75C3B6131FC66FD7DE79CD99/S0950268824001523a.pdf>. Acesso em: 21 fev. 2025.

Hirsch, J.; Klostermeier, D. What makes a type IIA topoisomerase a gyrase or a Topo IV? **Nucleic Acids Research**, v. 49, n. 11, p. 6027–6042, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkab270>. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/nar/gkab270>. Acesso em: 19 out. 2025.

Ho, C. S.; Wong, C. T. H.; Aung, T. T.; Lakshminarayanan, R.; Mehta, J. S.; Rauz, S.; McNally, A.; Kintses, B.; Peacock, S. J.; De La Fuente-Núñez, C.; Hancock, R. E. W.; Ting, D. S. J. Antimicrobial resistance: a concise update. **The Lancet Microbe**, v. 6, n. 1, p. 100947, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lanmic.2024.07.010>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2666524724002003>. Acesso em: 2 abr. 2025.

Hoang, T. T.; Le, H. T. T.; Nguyen, S. N.; Nguyen, U. D.; Tran, T. N.; Nguyen, C. H.; Truong, T. Q.; Vo, N. S.; Le, D. Q.; Nguyen, S. H.; Cao, M. D.; Dao, T. M. N.; Bui, T. H.; Nguyen, T. A.; Pham, T. L. A.; Le, T. B. T.; Ho, T. H. A novel gene linked to Imipenem resistance in *E. coli* isolate lacking known Imipenem-resistance genes. **Scientific Reports**, v. 15, 9065, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-025-93587-0>. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-025-93587-0>. Acesso em: 10 nov. 2025.

Hoeksema, M.; Olijve, L.; Pothof, J.; Ter Kuile, B. H. Effects of a previously selected antibiotic resistance on mutations acquired during development of a second resistance in *Escherichia coli*. **BMC Genomics**, v. 20, p. 284, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12864-019-5648-7>. Disponível em:

<https://bmcgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12864-019-5648-7>.

Acesso em: 17 out. 2025.

Hofer, U. Mobilizing resistance genes in the human gut. **Nature Reviews Microbiology**, v. 20, p. 317, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00728-7>.

Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00728-7>. Acesso em: 9 out. 2025.

Hoopar, D. C.; Jacoby, G. A. Topoisomerase inhibitors: fluoroquinolone mechanisms of action and resistance. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 6, p. a025320, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025320>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5008060/pdf/cshperspectmed-ANR-a025320.pdf>. Acesso em: 19 out. 2025.

Hosken, B. O.; Pereira, G. V. M.; Lima, T. T. M.; Ribeiro, J. B.; Magalhães Júnior, W. C. P.; Martin, J. G. P. Underexplored potential of lactic acid bacteria associated with artisanal cheese making in Brazil: challenges and opportunities. **Fermentation**, v. 9, n. 5, p. 409, 2023. DOI: [10.3390/fermentation9050409](https://doi.org/10.3390/fermentation9050409). Disponível em: <https://www.mdpi.com/2311-5637/9/5/409>. Acesso em: 07 jan. 2025.

Hou, W.; Ma, X.; Yu, Z.; Bari, L.; Jiang, H.; Du, Q.; Fan, R.; Wang, J.; Yang, Y.; Han, R. Impact of ultrasonic and heat treatments on the physicochemical properties and rennet-induced coagulation characteristics of milk from various species. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 111, 107084, dez. 2024. DOI: [10.1016/j.ultsonch.2024.107084](https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2024.107084). Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11480247/>. Acesso em: 07 jan. 2025.

Hu, J.; Lin, L.; Chen, M.; Yan, W. Modeling for predicting the time to detection of staphylococcal enterotoxin A in cooked chicken product. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, art. 1536, 2018. DOI: [10.3389/fmicb.2018.01536](https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01536). Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2018.01536/full>. Acesso em: 16 fev. 2025.

Hummels, K. R.; Berry, S. P.; Li, Z.; Taguchi, A.; Min, J. K.; Walker, S.; Marks, D. S.; Bernhardt, T. G. Coordination of bacterial cell wall and outer membrane biosynthesis. **Nature**, v. 615, p. 300-304, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41586-023-05750-0>. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41586-023-05750-0>. Acesso em: 10 out. 2025.

IBGE. Produção agropecuária: leite. Explica, 2025. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/leite/br>. Acesso em: 06 jan. 2025.

Ibrahim, M. E.; Algak, T. B.; Abbas, M.; Elamin, B. K. Emergence of *bla*TEM, *bla*CTX-M, *bla*SHV and *bla*OXA genes in multidrug-resistant *Enterobacteriaceae* and *Acinetobacter baumannii* in Saudi Arabia. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 22, n. 6, p. 1450, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3892/etm.2021.10885>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8549092/pdf/etm-22-06-10885.pdf>. Acesso em: 15 out. 2025.

Indió, V.; Gonzales-Barron, U.; Oliveri, C.; Lucchi, A.; Valero, A.; Achemchem, F.; Manfreda, G.; Savini, F.; Serraino, A.; De Cesare, A. Comparative analysis of the

microbiome composition of artisanal cheeses produced in the Mediterranean area. **Italian Journal of Food Safety**, v. 13, p. 12818, 2024. DOI: [10.4081/ijfs.2024.12818](https://doi.org/10.4081/ijfs.2024.12818). Disponível em: <https://www.pagepressjournals.org/ijfs/article/view/12818/12443>. Acesso em: 03 fev. 2025.

Jangra, M.; Travin, D. Y.; Aleksandrova, E. V.; Kaur, M.; Darwish, L.; Koteva, K.; Klepacki, D.; Wang, W.; Tiffany, M.; Sokaribo, A.; Chen, X.; Deng, Z.; Tao, M.; Coombes, B. K.; Vázquez-Laslop, N.; Polikanov, Y. S.; Mankin, A. S.; Wright, G. D. A broad-spectrum lasso peptide antibiotic targeting the bacterial ribosome. **Nature**, v. 640, p. 1022–1030, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41586-025-08723-7>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41586-025-08723-7>. Acesso em: 4 abr. 2025.

Jaramillo-Bedoya, E.; Trujillo-Alzate, Y. A.; Ocampo-Ibáñez, I. D. Surveillance of fresh artisanal cheeses revealed high levels of *Listeria monocytogenes* contamination in the department of Quindío, Colombia. **Pathogens**, v. 10, p. 1341, 2021. DOI: [10.3390/pathogens10101341](https://doi.org/10.3390/pathogens10101341). Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8537478/pdf/pathogens-10-01341.pdf>. Acesso em: 02 fev. 2025.

Jefferson, R. A.; Burgess, S. M.; Hirsh, D. β -Glucuronidase from *Escherichia coli* as a gene-fusion marker. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 83, n. 22, p. 8447–8451, nov. 1986. <https://doi.org/10.1073/pnas.83.22.8447>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC386947/pdf/pnas00326-0020.pdf>. Acesso em: 5 nov. 2025.

Jia, Y.; Zhao, L. The antibacterial activity of fluoroquinolone derivatives: an update (2018–2021). **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 224, p. 113741, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2021.113741>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0223523421005900?via%3Dihub>. Acesso em: 18 out. 2025.

Jiang, H.; Dong, Y.; Jiao, X.; Tang, B.; Feng, T.; Li, P.; Fang, J. In vivo fitness of *sul* gene-dependent sulfonamide-resistant *Escherichia coli* in the mammalian gut. **mSystems**, v. 9, n. 9, p. e00836-24, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1128/msystems.00836-24>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11406977/pdf/msystems.00836-24.pdf>. Acesso em: 20 out. 2025.

Johler, S.; Macori, G.; Bellio, A.; Acutis, P. L.; Gallina, S.; Decastelli, L. Short communication: Characterization of *Staphylococcus aureus* isolated along the raw milk cheese production process in artisan dairies in Italy. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 4, p. 2915–2920, 2018. DOI: [10.3168/jds.2017-13815](https://doi.org/10.3168/jds.2017-13815). Disponível em: <https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302%2818%2930078-X/fulltext>. Acesso em: 10 fev. 2025.

Joubrane, K.; Jammoul, A.; Daher, R.; Ayoub, S.; El Jed, M.; Hneino, M.; El Hawari, K.; Al Iskandarani, M.; Daher, Z. Microbiological contamination, antimicrobial residues,

and antimicrobial resistance in raw bovine milk in Lebanon. **International Dairy Journal**, v. 134, 105455, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2022.105455>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S095869462200139X?via%3Dihub>. Acesso em: 15 nov. 2025.

Juraschek, K.; Deneke, C.; Schmoger, S.; Grobbel, M.; Malorny, B.; Käsbohrer, A.; Schwarz, S.; Meemken, D.; Hammerl, J. A. Phenotypic and genotypic properties of fluoroquinolone-resistant, *qnr*-carrying *Escherichia coli* isolated from the German food chain in 2017. **Microorganisms**, v. 9, n. 6, p. 1308, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms9061308>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-2607/9/6/1308>. Acesso em: 19 out. 2025.

Karkman, A.; Do, T. T.; Walsh, F.; Virta, M. P. J. Antibiotic-resistance genes in waste water. **Trends in Microbiology**, v. 26, n. 3, p. 220–228, mar. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2017.09.005>. Disponível em: <https://core.ac.uk/download/pdf/297034977.pdf>. Acesso em: 25 abr. 2025.

Kaur, P.; Anuradha; Chandra, A.; Tanwar, T.; Sahu, S. K.; Mittal, A. Emerging quinoline- and quinolone-based antibiotics in the light of epidemics. **Chemical Biology & Drug Design**, v. 100, n. 6, p. 765–785, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1111/cbdd.14025>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/cbdd.14025>. Acesso em: 18 out. 2025.

Kerluku, M.; Ratkova Manovska, M.; Prodanov, M.; Stojanovska-Dimzoska, B.; Hajrulai-Musliu, Z.; Jankuloski, D.; Blagoevska, K. Phenotypic and genotypic analysis of antimicrobial resistance of commensal *Escherichia coli* from dairy cows' feces. **Processes**, v. 11, n. 7, p. 1929, 2023. DOI: [10.3390/pr11071929](https://doi.org/10.3390/pr11071929). Disponível em: <https://doi.org/10.3390/pr11071929>. Acesso em: 14 nov. 2025.

Kest, H.; Kaushik, A. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*: formidable threat or silence before the storm? **Journal of Infectious Diseases and Epidemiology**, v. 5, n. 5, p. 093, 2019. DOI: [10.23937/2474-3658/1510093](https://doi.org/10.23937/2474-3658/1510093). Disponível em: <https://doi.org/10.23937/2474-3658/1510093>. Acesso em: 9 fev. 2025.

Khuntia, H. K.; Manna, P.; Barik, D. K.; Biswas, S.; Bramha, P. K.; Pati, S.; Ranjit, M.; Bal, M.; Kerketta, A. S. High prevalence of enterotoxigenic *Escherichia coli* strains in hospitalized diarrhea patients: a preliminary study from a cholera-endemic area in India (2022). **Frontiers in Microbiology**, v. 16, art. 1470783, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1470783>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2025.1470783/full>. Acesso em: 30 ago. 2025.

Kimera, Z. I.; Mshana, S. E.; Rweyemamu, M. M.; Mboera, L. E. G.; Matee, M. I. N. Antimicrobial use and resistance in food-producing animals and the environment: an African perspective. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 9, n. 37, 2020. DOI: [10.1186/s13756-020-0697-x](https://doi.org/10.1186/s13756-020-0697-x). Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13756-020-0697-x>. Acesso em: 15 nov. 2025.

King, G.; Jenkins, C.; Hayden, I.; Rodwell, E. V.; Quinn, O.; Godbole, G.; Douglas, A.; Sawyer, C.; Balasegaram, S. Epidemiology of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* other than serotype O157:H7 in England, 2016–2023. **Journal of Medical Microbiology**, v. 74, n. 1, p. 001947, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1099/jmm.0.001947>. Disponível em: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jmm/10.1099/jmm.0.001947>. Acesso em: 21 fev. 2025.

Kitutu, F. E.; Namugambe, J. S.; Senkusu, J.; Nalubwama, J.; Ssenkeera, B.; Kateregga, J.; Aineplan, N.; Kesi, D. N.; Ndagije, H. B.; Kasakya, E.; Mugisha, L. National consumption of antimicrobials intended for use in animal livestock health: a retrospective data analysis of antimicrobial imports to Uganda from 2018 to 2020. **BMC Veterinary Research**, v. 21, n. 248, 2025. DOI: [10.1186/s12917-025-04709-9](https://doi.org/10.1186/s12917-025-04709-9). Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12917-025-04709-9>. Acesso em: 15 nov. 2025.

Kivata, M. W.; Mbuchi, M.; Eyase, F. L.; Bulimo, W. D.; Kyanya, C. K.; Oundo, V.; Muriithi, S. W.; Andagalu, B.; Mbinda, W. M.; Soge, O. O.; McClelland, R. S.; Sang, W.; Mancuso, J. D. *gyrA* and *parC* mutations in fluoroquinolone-resistant *Neisseria gonorrhoeae* isolates from Kenya. **BMC Microbiology**, v. 19, n. 1, p. 76, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1439-1>. Disponível em: <https://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12866-019-1439-1>. Acesso em: 19 out. 2025.

Krawczyk, S. J.; Leśniczak-Staszak, M.; Gowin, E.; Szaflarski, W. Mechanistic insights into clinically relevant ribosome-targeting antibiotics. **Biomolecules**, v. 14, n. 10, p. 1263, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/biom14101263>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2218-273X/14/10/1263>. Acesso em: 16 out. 2025.

Kumar, A.; Dhiman, S.; Krishan, B.; Samtiya, M.; Kumari, A.; Pathak, N.; Kumari, A.; Aluko, R. E.; Dhewa, T. Microbial enzymes and major applications in the food industry: a concise review. **Food Production, Processing and Nutrition**, v. 6, p. 85, 2024. DOI: [10.1186/s43014-024-00261-5](https://doi.org/10.1186/s43014-024-00261-5). Disponível em: <https://fppn.biomedcentral.com/articles/10.1186/s43014-024-00261-5>. Acesso em: 07 jan. 2025.

Kuzeubayeva, A.; Ussenbayev, A.; Aydin, A.; Akanova, Z.; Rychshanova, R.; Abdullina, E.; Seitkamzina, D.; Sakharia, L.; Ruzmatov, S. Contamination of Kazakhstan cheeses originating from *Escherichia coli* and its resistance to antimicrobial drugs. **Veterinary World**, v. 17, n. 2, p. 361–370, 2024. DOI: [10.14202/vetworld.2024.361-370](https://doi.org/10.14202/vetworld.2024.361-370). Disponível em: <https://doi.org/10.14202/vetworld.2024.361-370>. Acesso em: 17 nov. 2025.

Lahariya, A. U.; Garg, R.; Singh, S. K. Antimicrobial resistance: an emerging global challenge waiting for urgent actions. **Preventive Medicine Research & Reviews**, v. 1, n. 4, p. 169-171, 2024. DOI: https://doi.org/10.4103/PMRR.PMRR_11_24. Disponível em: https://doi.org/10.4103/PMRR.PMRR_11_24. Acesso em: 02 abr. 2025.

Lahou, E.; Uyttendaele, M. Growth potential of *Listeria monocytogenes* in soft, semi-soft and semi-hard artisanal cheeses after post-processing contamination in deli retail establishments. **Food Control**, v. 76, p. 13–23, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.12.033>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S095671351630723X>. Acesso em: 30 jul. 2025.

Laplante, K. L.; Dhand, A.; Wright, K.; Lauterio, M. Re-establishing the utility of tetracycline-class antibiotics for current challenges with antibiotic resistance. **Annals of Medicine**, v. 54, n. 1, p. 1686-1700, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1080/07853890.2022.2085881>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/07853890.2022.2085881>. Acesso em: 18 out. 2025.

Laux, C.; Peschel, A.; Krismer, B. *Staphylococcus aureus* colonization of the human nose and interaction with other microbiome members. **Microbiology Spectrum**, v. 7, n. 2, p. 1–12, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.gpp3-0029-2018>. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/microbiolspec.gpp3-0029-2018>. Acesso em: 10 fev. 2025.

Lee, J.; Seo, Y.; Ha, J.; Kim, S.; Choi, Y.; Oh, H.; Lee, Y.; Kim, Y.; Kang, J.; Park, E.; Yoon, Y. Influence of milk microbiota on *Listeria monocytogenes* survival during cheese ripening. **Food Science & Nutrition**, v. 8, n. 9, p. 5071-5076, 2020. DOI: [10.1002/fsn3.1806](https://doi.org/10.1002/fsn3.1806). Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/fsn3.1806>. Acesso em: 02 fev. 2025.

Lehniger, L.; Rudloff, A.; Pollok, S.; Grosse, N.; Wessel, K.; Brendel, M.; Popp, J.; Weber, K. A Model system for sensitive detection of viable *E. coli* bacteria combining direct viability PCR and a novel microarray-based detection approach. **Chemosensors**, v. 9, n. 12, 357, dez. 2021. DOI: [10.3390/chemosensors9120357](https://doi.org/10.3390/chemosensors9120357). Disponível em: <https://www.mdpi.com/2227-9040/9/12/357>. Acesso em: 5 nov. 2025.

Lemon, K. P.; Higgins, D. E.; Kolter, R. Flagellar motility is critical for *Listeria monocytogenes* biofilm formation. **Journal of Bacteriology**, v. 189, n. 12, p. 4418-4424, 2007. DOI: [10.1128/JB.01967-06](https://doi.org/10.1128/JB.01967-06). Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1913361/>. Acesso em: 03 fev. 2025.

Li, H.; Geng, W.; Hassan, M. M.; Zuo, M.; Wei, W.; Wu, X.; Ouyang, Q.; Chen, Q. Rapid detection of chloramphenicol in food using SERS flexible sensor coupled artificial intelligent tools. **Food Control**, v. 128, p. 108186, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108186>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713521003248?via%3Dihub>. Acesso em: 19 out. 2025.

Lim, K. L.; Khor, W. C.; Ong, K. H.; Timothy, L.; Aung, K. T. Occurrence and patterns of enterotoxin genes, *spa* types and antimicrobial resistance patterns in *Staphylococcus aureus* in food and food contact surfaces in Singapore. **Microorganisms**, v. 11, n. 7, art. 1785, 2023. DOI: [10.3390/microorganisms11071785](https://doi.org/10.3390/microorganisms11071785).

Disponível em: <https://doi.org/10.3390/microorganisms11071785>. Acesso em: 16 fev. 2025.

Lipszyc, A.; Szuplewska, M.; Bartosik, D. How do transposable elements activate expression of transcriptionally silent antibiotic resistance genes? **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 15, p. 8063, 2022. DOI: [10.3390/ijms23158063](https://doi.org/10.3390/ijms23158063). Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms23158063>. Acesso em: 17 nov. 2025.

Liu, F.; Luo, Y.; Xu, T.; Lin, H.; Qiu, Y.; Li, B. Current examining methods and mathematical models of horizontal transfer of antibiotic resistance genes in the environment. **Frontiers in Microbiology**, v. 15, 1371388, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1371388>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2024.1371388/full>. Acesso em: 25 abr. 2025.

Liu, H.; Meng, L.; Dong, L.; Zhang, Y.; Wang, J.; Zheng, N. Prevalence, antimicrobial susceptibility, and molecular characterization of *Escherichia coli* isolated from raw milk in dairy herds in Northern China. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. e730656, 2021. DOI: [10.3389/fmicb.2021.730656](https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.730656). Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.730656>. Acesso em: 16 nov. 2025.

Liu, J.; Zhu, Y.; Jay-Russell, M.; Lemay, D. G.; Mills, D. A. Reservoirs of antimicrobial resistance genes in retail raw milk. **Microbiome**, v. 8, p. 99, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00861-6>. Disponível em: <https://microbiomejournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40168-020-00861-6>. Acesso em: 10 abr. 2025.

Liu, Q.; Liu, C.; Wang, S.; Zhang, L.; Sun, H.; Liao, X. Differing envelope composition of Gram-negative and Gram-positive bacteria controls the adhesion and bactericidal performance of nanoscale zero-valent iron. **Journal of Hazardous Materials**, v. 489, 137663, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2025.137663>. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2025.137663>. Acesso em: 13 out. 2025.

Lobe, L. A. S.; Zanetti, V. C.; Ferreira, N. R. C.; Frutuoso, M. V.; Marian, I. C.; Maran, E. M.; Bastos, M. M. F.; Munaretto, J. E.; Rocha, G.; Ribas, M. R.; Wolleck, V. F.; Nascimento, F. L. A.; Palmeiro, J. K.; Miotto-Lindner, M.; Verruck, S. Antimicrobial susceptibility profile of *Escherichia coli* isolates from artisanal colonial cheese in Southern Brazil. **Food Safety and Health**, v. 3, p. 659-667, 2025. DOI: [10.1002/fsh3.70028](https://doi.org/10.1002/fsh3.70028). Disponível em: <https://doi.org/10.1002/fsh3.70028>. Acesso em: 9 nov. 2025.

Loeza-Lara, P. D.; Medina-Estrada, R. I.; Bravo-Monzón, Á. E.; Jiménez-Mejía, R. Frequency and characteristics of ESBL-producing *Escherichia coli* isolated from Mexican fresh cheese. **Food Science and Technology**, v. 43, 2023. DOI: [10.1590/fst.108222](https://doi.org/10.1590/fst.108222). Disponível em: <https://doi.org/10.1590/fst.108222>. Acesso em: 9 nov. 2025.

Los Santos, E.; Laviña, M.; Poey, M. E. Strict relationship between class 1 integrons and resistance to sulfamethoxazole in *Escherichia coli*. **Microbial Pathogenesis**, v.

161, p. 105206, 2021. DOI: [10.1016/j.micpath.2021.105206](https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.105206). Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.105206>. Acesso em: 17 nov. 2025.

Love, N. K.; Douglas, A.; Gharbia, S.; Hughes, H.; Morbhey, R.; Oliver, I.; Smith, G. E.; Elliot, A. J. Understanding the impact of the COVID-19 pandemic response on GI infection surveillance trends in England, January 2020-April 2022. **Epidemiology and Infection**, v. 151, p. e147, 2023. DOI: [10.1017/S095026882300136X](https://doi.org/10.1017/S095026882300136X). Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/services/aop-cambridge-core/content/view/FA32594F469AA5B5CB78D2B4416985CE/S095026882300136Xa.pdf/understanding-the-impact-of-the-covid-19-pandemic-response-on-gi-infection-surveillance-trends-in-england-january-2020-april-2022.pdf>. Acesso em: 21 de jan. 2025.

Lucchini, R.; Cardazzo, B.; Carraro, L.; Negrinotti, M.; Balzan, S.; Novelli, E.; Fasolato, L.; Fasoli, F.; Farina, G. Contribution of natural milk culture to microbiota, safety and hygiene of raw milk cheese produced in alpine Malga. **Italian Journal of Food Safety**, v. 7, n. 1, p. 6967, 2018. DOI: [10.4081/ijfs.2018.6967](https://doi.org/10.4081/ijfs.2018.6967). Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5913705/>. Acesso em: 14 jan. 2025.

Luegering, A.; Benz, I.; Knochenhauer, S.; Ruffing, M.; Schmidt, M. A. The Pix pilus adhesin of the uropathogenic *Escherichia coli* strain X2194 (O2:K(-):H6) is related to Pap pili but exhibits a truncated regulatory region. **Microbiology**, v. 149, p. 1387–1397, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1099/mic.0.26266-0>. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/10734483>. Acesso em: 27 ago. 2025.

Madigan, M. T.; Martinko, J. M.; Bender, K. S.; Buckley, D. H.; Stahl, D. A. Microbiologia de Brock. 14. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016. Disponível em: [https://books.google.com/books/about/Microbiologia de Brock 14%C2%AA Edi%C3%A3o.html?id=fk_WCwAAQBAJ](https://books.google.com/books/about/Microbiologia%20de%20Brock%2014%C2%AA%20Edi%C3%A3o.html?id=fk_WCwAAQBAJ). Acesso em: 8 out. 2025.

Mäkelä, J.; Sherratt, D. J. Organization of the *Escherichia coli* chromosome by a MukBEF axial core. **Molecular Cell**, v. 78, n. 2, p. 250-260, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2020.02.003>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1097276520300733>. Acesso em: 8 out. 2025.

Mangroliya, D.; Adhyaru, H.; Kabariya, J.; Ramani, V. Genomic insights into plasmid mediated AMR genes, virulence factors and mobile genetic elements in raw milk *Escherichia coli* from Gujarat, India. **Scientific Reports**, v. 15, n. 6320, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-025-90761-2>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-025-90761-2>. Acesso em: 11 out. 2025.

Margalho, L. P.; Graça, J. S.; Kamimura, B. A.; Lee, S. H. I.; Canales, H. D. S.; Chinha, A. I. A.; Caturla, M. Y. R.; Brexó, R. P.; Crucello, A.; Alvarenga, V. O.; Cruz, A. G.; Oliveira, C. A. F.; Sant'ana, A. S. Enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in Brazilian artisanal cheeses: occurrence, counts, phenotypic and genotypic profiles. **Food Microbiology**, v. 121, art. 104531, 2024. DOI: [10.1016/j.fm.2024.104531](https://doi.org/10.1016/j.fm.2024.104531). Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2024.104531>. Acesso em: 11 fev. 2025.

Maris, A. S.; Mody, P.; Brewer, D. J.; Humphries, R. M. The fluoroquinolones: an update for the clinical microbiologist. **Clinical Microbiology Newsletter**, v. 43, n. 12, p. 97–107, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clinmicnews.2021.06.001>. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.clinmicnews.2021.06.001>. Acesso em: 18 out. 2025.

Markley, J. L.; Wencewicz, T. A. Tetracycline-Inactivating Enzymes. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 1058, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01058>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2018.01058/full>. Acesso em: 16 out. 2025.

Marques, P.; Trindade, R. Panorama epidemiológico dos surtos de doenças transmitidas por alimentos entre 2000 e 2021 no Brasil. **Revista Multidisciplinar em Saúde**, v. 3, n. 3, p. 1-10, 2022. DOI: [10.51161/rem/3477](https://doi.org/10.51161/rem/3477). Disponível em: <https://editoraime.com.br/revistas/index.php/rem/article/view/3477>. Acesso em: 19 jan. 2025.

Martínez-Vázquez, A. V.; Vázquez-Villanueva, J.; Leyva-Zapata, L. M.; Barrios-García, H.; Rivera, G.; Bocanegra-García, V. Multidrug resistance of *Escherichia coli* strains isolated from bovine feces and carcasses in Northeast Mexico. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 8, p. e643802, 2021. DOI: [10.3389/fvets.2021.643802](https://doi.org/10.3389/fvets.2021.643802). Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.643802>. Acesso em: 15 nov. 2025.

Maynou, G.; Migura-Garcia, L.; Chester-Jones, H.; Ziegler, D. A.; Bach, A.; Terré, M. Effects of feeding pasteurized waste milk to dairy calves on phenotypes and genotypes of antimicrobial resistance in fecal *Escherichia coli* isolates before and after weaning. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 10, p. 7967-7979, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13040>. Disponível em: [https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(17\)30708-7/fulltext](https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(17)30708-7/fulltext). Acesso em: 9 nov. 2025.

Mei, J.; Guo, Q.; Wu, Y.; Li, Y.; Yu, H. Study of proteolysis, lipolysis, and volatile compounds of a Camembert-type cheese manufactured using a freeze-dried Tibetan kefir co-culture during ripening. **Food Science and Biotechnology**, v. 24, n. 1, p. 393-402, 2015. DOI: [10.1007/s10068-015-0052-9](https://doi.org/10.1007/s10068-015-0052-9). Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10068-015-0052-9>. Acesso em: 12 jan. 2025.

Mendonça, R.; Furtado, R.; Coelho, A.; Correia, C. B.; Suyarko, E.; Borges, V.; Gomes, J. P.; Pista, A.; Batista, R. Raw milk cheeses from Beira Baixa, Portugal - A contributive study for the microbiological hygiene and safety assessment. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 55, p. 1759-1772, 2024. DOI: [10.1007/s42770-024-01332-y](https://doi.org/10.1007/s42770-024-01332-y). Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s42770-024-01332-y>. Acesso em: 1 fev. 2025.

Mercosul - Mercado Comum do Sul. Grupo Mercado Comum. **Regulamento Técnico Mercosul de Identidade e Qualidade de Queijo Minas Frescal**. Resolução nº 145, de 13 de dezembro de 1996. Alterado pela Instrução Normativa nº 4, de 1 de março de 2004. Diário Oficial da União de 05/03/04, seção 01, p. 5. Brasília, 2004. Disponível em:

<https://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=05/03/2004&jornal=1&pagina=5&totalArquivos=120>. Acesso em: 07 jan. 2025.

Messele, Y. E.; Abdi, R. D.; Tegegne, D. T.; Bora, S. K.; Babura, M. D.; Emeru, B. A.; Werid, G. M. Analysis of milk-derived isolates of *E. coli* indicating drug resistance in central Ethiopia. **Tropical Animal Health and Production**, v. 51, p. 661–667, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11250-018-1737-x>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11250-018-1737-x>. Acesso em: 15 nov. 2025.

Millanao, A. R.; Mora, A. Y.; Villagra, N. A.; Bucarey, S. A.; Hidalgo, A. A. Biological Effects of Quinolones: A Family of Broad-Spectrum Antimicrobial Agents. **Molecules**, v. 26, n. 23, 7153, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26237153>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/26/23/7153>. Acesso em: 18 out. 2025.

Minas Gerais. Decreto nº 48.024, de 19 de agosto de 2020. Regulamenta a Lei nº 23.157, de 18 de dezembro de 2018, que dispõe sobre a produção e a comercialização dos queijos artesanais de Minas Gerais. Diário do Executivo [do Estado de Minas Gerais], Belo Horizonte, 19 ago. 2020. Disponível em: <https://www.almg.gov.br/legislacao-mineira/texto/DEC/48024/2020/>. Acesso em: 8 jan. 2025.

Moi, I. M.; Ibrahim, Z.; Abubakar, B. M.; Katagum, Y. M.; Abdullahi, A.; Yiga, G. A.; Abdullahi, B.; Mustapha, I.; Ali, J.; Mahmud, Z.; Maimusa, H.; Katagum, H. O.; Malami, A. M.; Mustapha, A.; Ayuba, I. Properties of foodborne pathogens and their diseases. **Foodborne pathogens: recent advances in control and detection**. IntechOpen, 2022. p. 1-28. DOI: [10.5772/intechopen.105694](https://doi.org/10.5772/intechopen.105694). Disponível em: <https://www.intechopen.com/chapters/82785>. Acesso em: 19 jan. 2025.

Molina, F.; López-Acedo, E.; Tabla, R.; Roa, I.; Gómez, A.; Rebollo, J. E. Improved detection of *Escherichia coli* and coliform bacteria by multiplex PCR. **BMC Biotechnology**, v. 15, p. 48, 2015.

Møller, T. S.; Overgaard, M.; Nielsen, S. S.; Bortolaia, V.; Sommer, M. O.; Guardabassi, L.; Olsen, J. E. Relation between *tetR* and *tetA* expression in tetracycline resistant *Escherichia coli*. **BMC Microbiology**, v. 16, n. 39, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12866-016-0649-z>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4788846/>. Acesso em: 18 out. 2025.

Montoliu, L. Encendiendo y apagando genes con un antibiótico. **Gen-Ética**, 2020. Disponível em: <https://montoliu.naukas.com/2020/08/09/encendiendo-y-apagando-genes-con-un-antibiotico/>. Acesso em: 17 out. 2025.

Mora-Ochomogo, M.; Lohans, C. T. β -Lactam antibiotic targets and resistance mechanisms: from covalent inhibitors to substrates. **RSC Medicinal Chemistry**, v. 12, n. 10, p. 1623-1639, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1039/d1md00200g>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8528271/pdf/MD-012-D1MD00200G.pdf>. Acesso em: 12 out. 2025.

Morandi, S.; Silvetti, T.; Bonazza, F.; Brasca, M. Occurrence and diversity of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) in Italian Alpine raw milk cheeses and their development in the earlier stages of different cheese-making processes. **SSRN Electronic Journal**, 2024. Disponível em: <https://ssrn.com/abstract=4926822>. Acesso em: 21 fev. 2025.

Mueller, M.; Tainter, C. R. ***Escherichia coli* infection**. In: STATPEARLS. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2025. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK564298/>. Acesso em: 2 mar. 2025.

Muhamad Hendri, N. A.; Nor Amdan, N. A.; Dounis, S. O.; Sulaiman Najib, N.; Louis, S. R. Ultrastructural and morphological studies on variables affecting *Escherichia coli* with selected commercial antibiotics. **Cell Surface**, v. 11, art. 100120, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tcsw.2024.100120>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10831149/pdf/main.pdf>. Acesso em: 17 fev. 2025.

Mulchandani, R.; Wang, Y.; Gilbert, M.; Van Boeckel, T. P. Global trends in antimicrobial use in food-producing animals: 2020 to 2030. **PLOS Global Public Health**, v. 3, n. 2, p. e0001305, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pgph.0001305>. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pgph.0001305>. Acesso em: 3 abr. 2025.

Muloi, D. M.; Hassell, J. M.; Wee, B. A.; Ward, M. J.; Bettridge, J. M.; Kivali, V.; Kiyong'a, A.; Ndinda, C.; Gitahi, N.; Ouko, T.; Imboma, T.; Akoko, J.; Murungi, M. K.; Njoroge, S. M.; Muinde, P.; Alumasa, L.; Kaitho, T.; Amany, F.; Ogendo, A.; Van Bunnik, B. A. D.; Kiiru, J.; Robinson, T. P.; Kang'ethe, E. K.; Karuiki, S.; Pedersen, A. B.; Fèvre, E. M.; Woolhouse, M. E. J. Genomic epidemiology of *Escherichia coli*: antimicrobial resistance through a One Health lens in sympatric humans, livestock and peri-domestic wildlife in Nairobi, Kenya. **BMC Medicine**, v. 20, n. 471, 11 p., 2022. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12916-022-02677-7>. Disponível em: <https://bmcmmedicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12916-022-02677-7>. Acesso em: 09 out. 2025.

Munhoz, I. G. A.; Alcântara, V. De F.; Mergulhão, B. De C. R.; Pereira, W. A. M. B.; Barros, Y. V. R.; Almeida, R. C. De. Análise microbiológica comparativa de queijo coalho comercializado em supermercados e feiras livres na Cidade de Maceió – Alagoas. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 5, p. e9410514582, 2021. DOI: [10.33448/rsd-v10i5.14582](https://doi.org/10.33448/rsd-v10i5.14582). Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/14582>. Acesso em: 06 fev. 2025.

Murray, L. M.; Hayes, A.; Snape, J.; Kasprzyk-Hordern, B.; Gaze, W. H.; Murray, A. K. Co-selection for antibiotic resistance by environmental contaminants. **NPJ Antimicrobials and Resistance**, v. 2, n. 9, 2024. DOI: [10.1038/s44259-024-00026-7](https://doi.org/10.1038/s44259-024-00026-7). Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s44259-024-00026-7>. Acesso em: 14 nov. 2025.

Musuka, G.; Machakwa, J.; Mano, O.; Iradukunda, P. G.; Gashema, P.; Moyo, E.; Nsengimana, A.; Manhokwe, S.; Dhliwayo, T.; Dzinamarira, T. Antimicrobial resistance and its impact on food safety determinants along the beef value chain in Sub-Saharan Africa - a scoping review. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v. 10, n.3, p.14,

2025. DOI: <https://doi.org/10.3390/tropicalmed10030082>. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/tropicalmed10030082>. Acesso em: 2 jun. 2025.

Naidoo, N.; Zishiri, O. T. Presence, pathogenicity, antibiotic resistance, and virulence factors of *Escherichia coli*: a review. **Bacteria**, v. 4, n. 1, art. 16, 2025. DOI: [10.3390/bacteria4010016](https://doi.org/10.3390/bacteria4010016). Disponível em: <https://doi.org/10.3390/bacteria4010016>. Acesso em: 20 jun. 2025.

Nájera-Domínguez, C.; Gutiérrez-Méndez, N.; Carballo-Carballo, D. E.; Peralta-Pérez, M. R.; Sánchez-Ramírez, B.; Nevarez-Moorillón, G. V.; Quintero-Ramos, A.; García-Triana, A.; Delgado, E. Milk-gelling properties of proteases extracted from the fruits of *Solanum elaeagnifolium* Cavanilles. **International Journal of Food Science**, v. 2022, p. 4625959, 2022. DOI: [10.1155/2022/4625959](https://doi.org/10.1155/2022/4625959). Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9596257/>. Acesso em: 12 jan. 2025.

Nampuak, C.; Tongkhao, K. Okra mucilage powder: a novel functional ingredient with antioxidant activity and antibacterial mode of action revealed by scanning and transmission electron microscopy. **International Journal of Food Science & Technology** v. 55, n. 2, 2019. DOI: [10.1111/ijfs.14308](https://doi.org/10.1111/ijfs.14308). Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/334578656> Okra mucilage powder a novel functional ingredient with antioxidant activity and antibacterial mode of action revealed by scanning and transmission electron microscopy. Acesso em: 15 fev. 2025.

Nascimento, E. C.; Cruz, B. E. V.; Calvi, M. F. Different cheeses, common geographical origin: history and tradition of Marajó cheese production. **Ateliê Geográfico**, v. 13, n. 3, p. 190-208, 2019. Disponível em: <https://revistas.ufg.br/atelie/article/view/57694/34216>. Acesso em: 07 jan. 2025.

Nascimento, É. L. S.; Araújo, E. O. M.; Sales, D. C.; Lucena, L. M.; Anaya, K.; Urbano, S. A.; Bezerra, J. S.; Rangel, A. H. N. Microbiological profile of artisanal coalho cheese produced in the Seridó region of Rio Grande do Norte, Brazil. **Food Science and Technology**, v. 44, 2024. DOI: <https://doi.org/10.5327/fst.00162>. Disponível em: <https://fstjournal.com.br/revista/article/view/162>. Acesso em: 02 fev. 2025.

Nasrollahian, S.; Graham, J. P.; Halaji, M. A review of the mechanisms that confer antibiotic resistance in pathotypes of *E. coli*. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 14, p. e1387497, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1387497>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11024256/pdf/fcimb-14-1387497.pdf>. Acesso em: 11 out. 2025.

National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases (EUA). LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury [Internet]. Bethesda, MD: National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, 2012. **Sulfonamides**. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK548382/>. Acesso em: 20 out. 2025.

National Library of Medicine (EUA). National Center for Biotechnology Information. **Sulfanilamide**. Bethesda, MD: National Library of Medicine, [2025]. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Sulfanilamide>. Acesso em: 20 out. 2025.

Nauta, K. M.; Ho, T. D.; Ellermeier, C. D. The Penicillin-binding protein PbpP is a sensor of -lactams and is required for activation of the extracytoplasmic function factor P in *Bacillus thuringiensis*. **mBio**, v. 12, n. 2, p. e00179-21, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1128/mBio.00179-21>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8092216/pdf/mBio.00179-21.pdf>. Acesso em: 15 out. 2025.

Nepomuceno, F. V.; Akutsu, R.; Draeger, C. L.; Silva, I. C. Foodborne diseases: a study before and during the COVID-19 pandemic in Brazil. **Nutrients**, v. 16, n. 1, p. 60, 2023. DOI: [10.3390/nu16010060](https://doi.org/10.3390/nu16010060). Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/376815938_Foodborne_Diseases_A_Study_before_and_during_the_COVID-19_Pandemic_in_Brazil. Acesso em: 20 jan. 2025.

Nepomuceno, R. S. C.; Costa Junior, L. C. G.; Costa, R. G. B. Exopolysaccharide-producing culture in the manufacture of Prato cheese. **LWT - Food Science and Technology**, v. 72, p. 383-389, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.04.053>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643816302377>. Acesso em: 07 jan. 2025.

Neves, L. C. M.; Ribeiro, M. V. B. Análise dos surtos de doenças transmitidas por alimentos na cidade do Recife, Pernambuco. **RECIMA21 - Revista Científica Multidisciplinar**, v. 4, n. 9, p. e493911, 2023. DOI: [10.47820/recima21.v4i9.3911](https://doi.org/10.47820/recima21.v4i9.3911). Disponível em: <https://recima21.com.br/index.php/recima21/article/view/3911>. Acesso em: 20 jan. 2025.

Neyaz, L. A.; Alghamdi, H. S.; Alghashmari, R. M.; Alswat, S. S.; Almaghrabi, R. O.; Bazaid, F. S.; Albarakaty, F. M.; Elbanna, K.; Abulreesh, H. H. A comprehensive review on the current status of culture media for routine standardized isolation of *Salmonella* and *Shigella* spp. from contaminated food. **Journal of Umm Al-Qura University for Applied Sciences**, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1007/s43994-024-00205-2>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s43994-024-00205-2>. Acesso em: 04 fev. 2025.

New England Biolabs, Inc. **Guidelines for PCR Optimization with Taq DNA Polymerase**. Ipswich, MA: New England Biolabs, 2025. Disponível em: <https://www.neb.com/en/tools-and-resources/usage-guidelines/guidelines-for-pcr-optimization-with-taq-dna-polymerase>. Acesso em: 20 out. 2025.

Nicosia, F. D.; Pino, A.; Maciel, G. L. R.; Sanfilippo, R.; Caggia, C.; De Carvalho, A. F.; Randazzo, C. L. Technological characterization of lactic acid bacteria strains for potential use in cheese manufacture. **Foods**, v. 12, n. 6, 1154, 2023. DOI: [10.3390/foods12061154](https://doi.org/10.3390/foods12061154). Disponível em: <https://www.mdpi.com/2304-8158/12/6/1154>. Acesso em: 08 jan. 2025.

Nitz, J.; Renner, R.; Krömker, V. Destruction of Penicillin residues in waste milk. **Milk Science International**, v. 78, n. 1, p. 1-6, 2025. DOI: <https://doi.org/10.48435/MSI.2025.1>. Disponível em: <https://doi.org/10.48435/MSI.2025.1>. Acesso em: 9 nov. 2025.

Niveda, S.; Rahiman, O. M. F.; Sreenadh, P. K.; Prasanth, M. L. L. A review on the crisis of antibiotic resistance and the strategies to combat resistance. **Journal of Current Research in Scientific Medicine**, v. 10, n. 2, p. 148-154, 2024. DOI: Disponível em: https://doi.org/10.4103/jcrsm.jcrsm_19_24. Acesso em: 2 abr. 2025.

Nunes, F. L.; Mendonça, J. K. S.; Dias, B. P.; Silva, E. P. R.; Aguiar, N. T.; Santos, A. J. F.; Conti, A. C. M.; Alfieri, A. A.; Ribeiro-Júnior, J. C. Microbiological quality and safety of Brazilian mozzarella cheese during production stages. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 22, n. 4, p. 256-262, 2025. DOI: [10.1089/fpd.2023.0135](https://doi.org/10.1089/fpd.2023.0135). Disponível em: <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/fpd.2023.0135>. Acesso em: 14 mar. 2025.

Ohya, K.; Hirose, S.; Nishikaku, K.; Ohnishi, T.; Lee, K.; Iyoda, S.; Kubomura, A.; Akeda, Y.; Mizukami, K.; Suzuki, T.; Takinami, K.; Taquahashi, Y.; Kuwagata, M.; Kitajima, S.; Inoue, T.; Hara-Kudo, Y. Genomic features and pathogenicity of atypical diarrheagenic *Escherichia coli* from a large foodborne outbreak. **International Journal of Food Microbiology**, v. 434, art. 111134, 16 abr. 2025. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2025.111134>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160525000790>. Acesso em: 20 ago. 2025.

O'lipphant, C. M.; Green, G. W. *Quinolones: a comprehensive review*. **American Family Physician**, v. 65, n. 3, p. 455-465, 2002. Disponível em: <https://www.aafp.org/pubs/afp/issues/2002/0201/p455.pdf>. Acesso em: 19 dez. 2025.

Oliveira, G. B.; Favarin, L.; Luchese, R. H.; Mcintosh, D. Psychrotrophic bacteria in milk: How much do we really know? **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 46, n. 2, p. 313-321, 2015. DOI: [10.1590/S1517-838246220130963](https://doi.org/10.1590/S1517-838246220130963). Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bjm/a/pMTWbsbkH4YWzc4bpp6B4dP/?lang=en>. Acesso em: 10 jan. 2025.

Oliveira, J. A. S.; Ferreira, L. C. Underreporting of foodborne diseases in Januária-MG. **Uniciências**, v. 25, n. 2, p. 77-79, 2021. DOI: [10.17921/1415-5141.2021v25n2p77-79](https://doi.org/10.17921/1415-5141.2021v25n2p77-79). Disponível em: <https://uniciencias.pgsscogna.com.br/uniciencias/article/view/9379>. Acesso em: 20 jan. 2021.

Oliveira, M. D.; Santos, I. G.; Dias, B. P.; Nascimento, C. A.; Rodrigues, É. M.; Ribeiro Júnior, J. C.; Alfieri, A. A.; Alexandrino, B. Hygienic-health quality and microbiological hazard of clandestine Minas Frescal cheese commercialized in north Tocantins, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 42, n. 2, p. 679-694, 2021. DOI: [10.5433/1679-0359.2021v42n2p679](https://doi.org/10.5433/1679-0359.2021v42n2p679). Disponível em: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2021v42n2p679>. Acesso em: 17 nov. 2025.

Omarak, R. A.; Hinenoy, A.; Elbagory, A. M.; Yamasaki, S. Prevalence and molecular characterization of antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolated from raw milk and raw milk cheese in Egypt. **Journal of Food Protection**, v. 81, n. 2, p. 226–232, 2018. DOI: [10.4315/0362-028X.JFP-17-277](https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-17-277). Disponível em: <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-17-277>. Acesso em: 15 nov. 2025.

Osek, J.; Lachlara, B.; Wieczorek, K. *Listeria monocytogenes* - how this pathogen survives in food-production environments? **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 866462, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.866462>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2022.866462/full>. Acesso em: 03 fev. 2025.

Ovung, A.; Bhattacharyya, J. Sulfonamide drugs: structure, antibacterial property, toxicity, and biophysical interactions. **Biophysical Reviews**, v. 13, n. 2, p. 259–272, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12551-021-00795-9>. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8046889/pdf/12551_2021_Article_795.pdf. Acesso em: 20 out. 2025.

Pakbin, B.; Brück, W. M.; Rossen, J. W. A. Virulence factors of enteric pathogenic *Escherichia coli*: A review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 18, p. 9922, 2021. DOI: [10.3390/ijms22189922](https://doi.org/10.3390/ijms22189922). Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms22189922>. Acesso em: 17 nov. 2025.

Pandey, N.; Cascella, M. **Beta-Lactam Antibiotics**. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545311/>. Acesso em: 13 out. 2025.

Pandey, S.; Doo, H.; Keum, G. B.; Kim, E. S.; Kwak, J.; Ryu, S.; Choi, Y.; Kang, J.; Kim, S.; Lee, N. R.; Oh, K. K.; Lee, J. H.; Kim, H. B. Antibiotic resistance in livestock, environment and humans: One Health perspective. **Journal of Animal Science and Technology**, v. 66, n. 2, p. 266–278, 2024. DOI: [10.5187/jast.2023.e129](https://doi.org/10.5187/jast.2023.e129). Disponível em: <https://doi.org/10.5187/jast.2023.e129>. Acesso em: 15 nov. 2025.

Parras-Moltó, M.; Lund, D.; Ebmeyer, S.; Larsson, D. G. J.; Johnning, A.; Kristiansson, E. The transfer of antibiotic resistance genes between evolutionarily distant bacteria. **mSphere**, v. 10, n. 6, p. e00114-25, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1128/msphere.00114-25>. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/epub/10.1128/msphere.00114-25>. Acesso em: 15 abr. 2025.

Patangia, D. V.; Ryan, C. A.; Dempsey, E.; Stanton, C.; Ross, R. P. Vertical transfer of antibiotics and antibiotic-resistant strains across the mother/baby axis. **Trends in Microbiology**, v. 30, n. 1, p. 47-56, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2021.05.006>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0966842X21001281>. Acesso em: 25 abr. 2025.

Pawłowska, B.; Sysa, M.; Godela, A.; Biczak, R. Antibiotics amoxicillin, ampicillin and their mixture - impact on bacteria, fungi, ostracods and plants. **Molecules**, v. 29, n. 18,

4301, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules29184301>. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules29184301>. Acesso em: 15 out. 2025.

Pearce, R.; Conrady, B.; Guardabassi, L. Prevalence and types of extended-spectrum β -lactamase-producing bacteria in retail seafood. **Foods**, v. 12, n. 16, 3033, 2023. DOI: [10.3390/foods12163033](https://doi.org/10.3390/foods12163033). Disponível em: <https://doi.org/10.3390/foods12163033>. Acesso em: 11 nov. 2025.

Pearson, J. C.; Gillett, E.; Gadri, N. D.; Dionne, B. Tetracyclines, the old and the new: A narrative review. **CMI Communications**, v. 2, n. 1, p. 105059, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cmicom.2025.105059>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2950590925000010>. Acesso em: 16 out. 2025.

Pellin, V.; Ribeiro, J. C.; Mantovaneli Junior, O. Contribuições dos produtos tradicionais para o território: a experiência do queijo Serra da Estrela, em Portugal. **Revista Territórios & Fronteiras**, v. 9, n. 1, p. 264-284, 2016. Disponível em: <https://periodicoscientificos.ufmt.br/territoriosefronteiras/index.php/v03n02/article/view/430/pdf>. Acesso em: 07 jan. 2025.

Pena, R. H. R.; Freitas, F.; Castro, B. G. Hygienic-sanitary quality and antimicrobial sensitivity profile of *Escherichia coli* in milk and cheese sold illegally in municipalities of northern Mato Grosso, Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 88, e0702019, 2021. DOI: [10.1590/1808-1657000702019](https://doi.org/10.1590/1808-1657000702019). Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1808-1657000702019>. Acesso em: 17 nov. 2025.

Penna, A. L. B.; Gigante, M. L.; Todorov, S. D. Artisanal Brazilian cheeses - history, marketing, technological and microbiological aspects. **Foods**, v. 10, n. 7, p. 1562, 2021. DOI: [10.3390/foods10071562](https://doi.org/10.3390/foods10071562). Disponível em: <https://www.mdpi.com/2304-8158/10/7/1562>. Acesso em: 06 jan. 2025.

Pereira, L. G. C. Queijos artesanais brasileiros: aspectos culturais e legislativos. **Cadernos ASLEGIS**, n. 46, p. 125-134, 2012. ISSN 1677-9010. Disponível em: <https://bd.camara.leg.br/bd/items/1c9aafe4-4c9f-497c-876a-ff74f3670397>. Acesso em: 08 jan. 2025.

Perewari, D. O.; Otokunefor, K.; Agbagwa, O. E. Tetracycline-resistant genes in *escherichia coli* from clinical and nonclinical sources in Rivers State, Nigeria. **International Journal of Microbiology**, v. 2022, 9192424, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1155/2022/9192424>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9288291/pdf/IJMICRO2022-9192424.pdf>. Acesso em: 17 out. 2025.

Perra, N. Non-pharmaceutical interventions during the COVID-19 pandemic: A review. **Physics Reports**, v. 913, p. 1-52, 2021. DOI: [10.1016/j.physrep.2021.02.001](https://doi.org/10.1016/j.physrep.2021.02.001). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0370157321000624>. Acesso em: 22 jan. 2025.

Perrin, F.; Tenenhaus-Aziza, F.; Michel, V.; Mischczycha, S.; Bel, N.; Sanaa, M. Quantitative risk assessment of haemolytic and uremic syndrome linked to O157:H7 and non-O157:H7 Shiga-Toxin producing *Escherichia coli* strains in raw milk soft cheeses. **Risk Analysis**, v. 35, n. 1, p. 109-128, 2015. DOI: [10.1111/risa.12267](https://doi.org/10.1111/risa.12267). Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/risa.12267>. Acesso em: 02 fev. 2025.

Perry, J.; Waglechner, N.; Wright, G. The prehistory of antibiotic resistance. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 6, n. 6, a025197, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025197>. Disponível em: <https://perspectivesinmedicine.cshlp.org/content/6/6/a025197.full.pdf>. Acesso em: 9 out. 2025.

Petrin, S.; Orsini, M.; Massaro, A.; Olsen, J. E.; Barco, L.; Losasso, C. Phenotypic and genotypic antimicrobial resistance correlation and plasmid characterization in *Salmonella* spp. isolates from Italy reveal high heterogeneity among serovars. **Frontiers in Public Health**, v. 11, p. 1221351, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpubh.2023.1221351>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10513437/>. Acesso em: 20 out. 2025

Pham, T. D. M.; Ziora, Z. M.; Blaskovich, M. A. T. Quinolone antibiotics. **MedChemComm**, v. 10, n. 10, p. 1719, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1039/c9md00120d>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6836748/pdf/MD-010-C9MD00120D.pdf>. Acesso em: 18 out. 2025.

Piergiacomo, F.; Brusetti, L.; Pagani, L. Understanding the interplay between antimicrobial resistance, microplastics and xenobiotic contaminants: a leap towards one health? **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 20, n. 1, 42, 2023. DOI: [10.3390/ijerph20010042](https://doi.org/10.3390/ijerph20010042). Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijerph20010042>. Acesso em: 15 nov. 2025.

Pineda, A. P. A.; Campos, G. Z.; Pimentel-Filho, N. J.; Franco, B. D. G. M.; Pinto, U. M. Brazilian Artisanal Cheeses: Diversity, Microbiological Safety, and Challenges for the Sector. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 666922, 2021. DOI: [10.3389/fmicb.2021.666922](https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.666922). Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2021.666922/full>. Acesso em: 01 fev. 2025.

Pinto, C.; Melo-Miranda, R.; Gordo, I.; Sousa, A. The selective advantage of the *lac* operon for *Escherichia coli* is conditional on diet and microbiota composition. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, 2021. DOI: [10.3389/fmicb.2021.709259](https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.709259). Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2021.709259/full>. Acesso em: 5 nov. 2025.

Pioletti, M.; Schlünzen, F.; Harms, J.; Zarivach, R.; Glühmann, M.; Avila, H.; Bashan, A.; Bartels, H.; Auerbach, T.; Jacobi, C.; Hartsch, T.; Yonath, A.; Franceschi, F. Crystal structures of complexes of the small ribosomal subunit with tetracycline, edeine and IF3. **EMBO Journal**, v. 20, n. 8, p. 1829-1839, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1093/emboj/20.8.1829>. Disponível em:

<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC125237/pdf/cde193.pdf>. Acesso em: 16 out. 2025.

Pires, B. A. D.; De Oliveira, J. W. S.; Silva, C. R.; Abrantes, S. M. P.; Marin, V. A. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from Minas Frescal Cheese in the city of Rio de Janeiro – Phenotypic and genotypic profile. **Vigilância Sanitária em Debate**, v. 7, n. 3, p. 86–91, 2019. DOI: [10.22239/2317-269X.01296](https://doi.org/10.22239/2317-269X.01296). Disponível em: <https://doi.org/10.22239/2317-269X.01296>. Acesso em: 17 nov. 2025.

Plefh, A. C. V.; Bánkuti, F. I.; Damasceno, J. C.; Santos, G. T. Sociopsychological factors influencing Brazilian farmers' intention to regularize their cheese production. **Journal of Dairy Science**, v. 108, p. 5016-5026, 2025. DOI: [10.3168/jds.2024-25672](https://doi.org/10.3168/jds.2024-25672). Disponível em: [https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(25\)00116-X/fulltext](https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(25)00116-X/fulltext). Acesso em: 01 out. 2025.

Poirel, L.; Madec, J. Y.; Lupo, A.; Schink, A. K.; Kieffer, N.; Nordmann, P.; Schwarz, S. Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli*. **Microbiology Spectrum**, v. 6, n. 4, e0026-2017, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.arba-0026-2017>. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/microbiolspec.arba-0026-2017>. Acesso em: 17 nov. 2025.

Pokharel, P.; Dhakal, S.; Dozois, C. M. The diversity of *Escherichia coli* pathotypes and vaccination strategies against this versatile bacterial pathogen. **Microorganisms**, v. 11, n. 2, p. 344, 2023. DOI: [10.3390/microorganisms11020344](https://doi.org/10.3390/microorganisms11020344). Disponível em: <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020344>. Acesso em: 20 fev. 2025.

Possas, A.; Bonilla-Luque, O. M.; Valero, A. From cheese-making to consumption: exploring the microbial safety of cheeses through predictive microbiology models. **Foods**, v. 10, n. 2, p. 355, 2021. DOI: [10.3390/foods10020355](https://doi.org/10.3390/foods10020355). Disponível em: <https://www.mdpi.com/2304-8158/10/2/355>. Acesso em: 02 fev. 2025.

Powers, M. E.; Wardenburg, J. B. Igniting the fire: *Staphylococcus aureus* virulence factors in the pathogenesis of sepsis. **PLoS Pathogens**, v. 10, n. 2, e1003871, 2014. DOI: [10.1371/journal.ppat.1003871](https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003871). Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003871>. Acesso em: 09 fev. 2025.

Puangseeree, J.; Prathan, R.; Srisanga, S.; Chuanchuen, R. Molecular basis of the persistence of chloramphenicol resistance among *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. from pigs, pork and humans in Thailand. **PLoS One**, v. 19, n. 5, p. e0304250, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0304250>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11125496/pdf/pone.0304250.pdf>. Acesso em: 20 out. 2025.

Qamar, F. N.; Hussain, W.; Qureshi, S. Salmonellosis including enteric fever. **Pediatric Clinics of North America**, v. 69, n. 1, p. 65-77, 2022. DOI: [10.1016/j.pcl.2021.09.007](https://doi.org/10.1016/j.pcl.2021.09.007). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031395521001498>. Acesso em: 04 fev. 2025.

Qin, T. T.; Kang, H. Q.; Ma, P.; Li, P. P.; Huang, L. Y.; Gu, B. SOS response and its regulation on the fluoroquinolone resistance. **Annals of Translational Medicine**, v. 3, n. 22, p. 343, 2015. DOI: <https://doi.org/10.3978/j.issn.2305-5839.2015.12.09>. Disponível em: <https://doi.org/10.3978/j.issn.2305-5839.2015.12.09>. Acesso em: 18 out. 2025.

Qiu, J.; Jiang, Z.; Ju, Z.; Zhao, X.; Yang, J.; Guo, H.; Sun, S. Molecular and Phenotypic Characteristics of *Escherichia coli* Isolates from Farmed Minks in Zhucheng, China. **BioMed Research International**, v. 2019, ID 3917841, p. 1-10, 2019. DOI: [10.1155/2019/3917841](https://doi.org/10.1155/2019/3917841). Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2019/3917841>. Acesso em: 20 out. 2025.

Rabbani, A.; Ayyash, M.; D'costa, C. D. C.; Chen, G.; Xu, Y.; Kamal-Eldin, A. Effect of heat pasteurization and sterilization on milk safety, composition, sensory properties, and nutritional quality. **Foods**, v. 14, n. 8, 1342, 2025. DOI: [10.3390/foods14081342](https://doi.org/10.3390/foods14081342). Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC12026572/pdf/foods-14-01342.pdf>. Acesso em: 10 jul. 2025.

Ramírez-Bayard, I. E.; Mejía, F.; Medina-Sánchez, J. R.; Cornejo-Reyes, H.; Castillo, M.; Querol-Audi, J.; Martínez-Torres, A. O. Prevalence of plasmid-associated tetracycline resistance genes in multidrug-resistant *Escherichia coli* strains isolated from environmental, animal and human samples in Panama. **Antibiotics**, Basel, v. 12, n. 2, p. 280, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics12020280>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-6382/12/2/280>. Acesso em: 16 out. 2025.

Reyes Ruiz, L. M.; Williams, C. L.; Tamayo, R. A β -barrel assembly pathway is required for *Vibrio cholerae* viability, motility and colonization in the host. **PLoS Pathogens**, v. 16, n. 4, e1008439, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008439>. Disponível em: <https://journals.plos.org/plospathogens/article?id=10.1371/journal.ppat.1008439>. Acesso em: 12 nov. 2025.

Ribeiro, L. F.; Rossi, G. A. M.; Sato, R. A.; Souza Pollo, A.; Cardozo, M. V.; Amaral, L. A.; Fairbrother, J. M. Epidemiology, virulence and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from small Brazilian farms producers of raw milk fresh cheese. **Microorganisms**, v. 12, n. 8, p. 1739, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms12081739>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-2607/12/8/1739>. Acesso em: 01 mar. 2025.

Ribeiro, L. F.; Barbosa, M. M. C.; Pinto, F. R.; Maluta, R. P.; Oliveira, M. C.; Souza, V.; Medeiros, M. I. M.; Borges, L. A.; Amaral, L. A.; Fairbrother, J. M. Antimicrobial Resistance and Virulence Factors of *Escherichia coli* in Cheese Made from Unpasteurized Milk in Three Cities in Brazil. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 13, n. 9, p. 469–476, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1089/fpd.2015.2106>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27258947/>. Acesso em: 19 dez. 2025.

Roberts, M. C.; Schwarz, S. Tetracycline and phenicol resistance genes and mechanisms: importance for agriculture, the environment, and humans. **Journal of Environmental Quality**, v. 45, n. 2, p. 576–592, 2016. DOI: [10.2134/jeq2015.04.0207](https://doi.org/10.2134/jeq2015.04.0207). Disponível em: <https://doi.org/10.2134/jeq2015.04.0207>. Acesso em: 14 nov. 2025.

Robinson, E.; Travanut, M.; Fabre, L.; Larréché, S.; Ramelli, L.; Pascal, L.; Guinard, A.; Vincent, N.; Calba, C.; Meurice, L.; Le Thien, M. A.; Fourgere, E.; Jones, G.; Fournet, N.; Smith-Palmer, A.; Brown, D.; Le Hello, S.; Gandara, M. P.; Weill, F. X.; Da Silva, N. J. Outbreak of *Salmonella Newport* associated with internationally distributed raw goats' milk cheese, France, 2018. **Epidemiology and Infection**, v. 148, p. e180, 2020. DOI: [10.1017/S0950268820000904](https://doi.org/10.1017/S0950268820000904). Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/journals/epidemiology-and-infection/article/outbreak-of-salmonella-newport-associated-with-internationally-distributed-raw-goats-milk-cheese-france-2018/528E4E70FB25CDBB293627227740E39D>. Acesso em: 15 mar. 2025.

Rocha, R. S.; Silva, R.; Guimarães, J. T.; Balthazar, C. F.; Pimentel, T. C.; Neto, R. P. C.; Tavares, M. I. B.; Esmerino, E. A.; Freitas, M. Q.; Cappato, L. P.; Calvacanti, R. N.; Rodrigues, F. N.; Raices, R. S. L.; Silva, M. C.; Cruz, A. G. Possibilities for using ohmic heating in Minas Frescal cheese production. **Food Research International**, v. 131, p. 109027, 2020. DOI: [10.1016/j.foodres.2020.109027](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109027). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996920300521>. Acesso em: 06 jan. 2025.

Rodrigues, C. F.; Silva, F. The rise, fall, and rethink of (fluoro)quinolones: a quick rundown. **Pathogens**, v. 14, n. 6, 21 p., 525, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3390/pathogens14060525>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-0817/14/6/525>. Acesso em: 18 out. 2025.

Rodrigues, L. F. S. **Qualidade microbiológica de queijos tipo Minas Frescal comercializados no Distrito Federal e determinação da resistência antimicrobiana de bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* isoladas desses queijos**. 2021. 124 f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologias em Saúde) – Universidade de Brasília, Brasília, 2021. Acesso em: 20 out. 2025.

Rohana, H.; Hager-Cohen, A.; Azrad, M.; Peretz, A. Trend of changes in chloramphenicol resistance during the years 2017–2020: a retrospective report from Israel. **Antibiotics**, v. 12, n. 2, p. 196, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics12020196>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-6382/12/2/196>. Acesso em: 19 out. 2025.

Ruiz, N.; Silhavy, T. J. How *Escherichia coli* became the flagship bacterium of molecular biology. **Journal of Bacteriology**, v. 204, n. 9, e00230-22, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1128/jb.00230-22>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9487582/pdf/jb.00230-22.pdf>. Acesso em: 20 fev. 2025.

Rusu, A.; Buta, E. L. The Development of third-generation tetracycline antibiotics and new perspectives. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 12, p. 2085, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13122085>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1999-4923/13/12/2085>. Acesso em: 16 out. 2025.

Sabioni, J. G.; Hirooka, E. Y.; Souza, M. L. R. De. Intoxicação alimentar por queijo Minas contaminado com *Staphylococcus aureus*. **Revista de Saúde Pública**, v. 22, n. 5, p. 458–461, 1988. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0034-89101988000500010>.

Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0034-89101988000500010>. Acesso em: 16 fev. 2025.

Saha, T.; Arisoyin, A. E.; Bollu, B.; Ashok, T.; Babu, A.; Issani, A.; Jhaveri, S.; Avanthika, C. Enteric fever: diagnostic challenges and the importance of early intervention. **Cureus**, v. 15, n. 7, p. e41831, 2023. DOI: [10.7759/cureus.41831](https://doi.org/10.7759/cureus.41831). Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10423039/>. Acesso em: 04 fev. 2025.

Sakaridis, I.; Psomas, E.; Karatzia, M. A.; Samouris, G. Hygiene and safety of hard cheese made from raw cows' milk. **Veterinary Sciences**, v. 9, n. 10, 569, 2022. DOI: [10.3390/vetsci9100569](https://doi.org/10.3390/vetsci9100569). Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9609050/>. Acesso em: 12 de jan. 2025.

Salehi, M.; Aghamaali, M. R.; Sajedi, R. H.; Asghari, S. M.; Jorjani, E. Purification and characterization of a milk-clotting aspartic protease from *Withania coagulans* fruit. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 98, p. 847-854, 2017. DOI: [10.1016/j.ijbiomac.2017.02.034](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.02.034). Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28202335/>. Acesso em: 12 jan. 2025.

Sánchez-Osuna, M.; Cortés, P.; Barbé, J.; Erill, I. Origin of the mobile di-hydro-pterolate synthase gene determining sulfonamide resistance in clinical isolates. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, e03332, 2019. DOI: [10.3389/fmicb.2018.03332](https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.03332). Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.03332>. Acesso em: 17 nov. 2025.

Sarowska, J.; Futoma-Koloch, B.; Jama-Kmiecik, A.; Frej-Madrzak, M.; Ksiazczyk, M.; Bugla-Ploskonska, G.; Choroszy-Krol, I. Virulence factors, prevalence and potential transmission of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolated from different sources: recent reports. **Gut Pathogens**, v. 11, art. 10, 2019. DOI: [10.1186/s13099-019-0290-0](https://doi.org/10.1186/s13099-019-0290-0). Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13099-019-0290-0>. Acesso em: 20 fev. 2025.

Sauders, B. D.; D'amico, D. J. *Listeria monocytogenes* cross-contamination of cheese: risk throughout the food supply chain. **Epidemiology and Infection**, v. 144, n. 13, p. 2693–2697, 2016. DOI: [10.1017/S0950268816001503](https://doi.org/10.1017/S0950268816001503). Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S0950268816001503>. Acesso em: 01 fev. 2025.

Savariz, A.; D'agostini, F. M.; Degenhardt, R. **Epidemiologia dos surtos de salmonelose no Brasil: revisão de literatura**. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E SEMINÁRIO INTEGRADO DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO (SIEPE), 2017. Disponível em: <https://periodicos.unoesc.edu.br/siepe/article/view/14803/7531>. Acesso em: 06 fev. 2025.

Schön, K.; Schornsteiner, E.; Dzieciol, M.; Wagner, M.; Müller, M.; Schmitz-Esser, S. Microbial communities in dairy processing environment floor-drains are dominated by product-associated bacteria and yeasts. **Food Control**, v. 70, p. 210-215, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.05.057>. Disponível

em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713516303024>. Acesso em: 02 fev. 2025.

Schwarz, S.; Kehrenberg, C.; Doublet, B.; Cloeckert, A. Molecular basis of bacterial resistance to chloramphenicol and florfenicol. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 28, n. 5, p. 519–542, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.femsre.2004.04.001>. Disponível em: <https://academic.oup.com/femsre/article/28/5/519/776258>. Acesso em: 19 out. 2025.

Shah, H. J.; Jervis, R. H.; Wymore, K.; Hanson, H.; Shapiro, T.; Ailes, E.; Bennett, S. D.; Bottichio, L. D.; Devries, A. S.; Jones, T. F.; Laine, H.; Lyons, A. T.; Velasco, J. M.; Whitney, H. G.; Hale, C.; Griffin, P. M.; Soderlund, D. M. Reported incidence of infections caused by pathogens transmitted commonly through food: impact of increased use of culture-independent diagnostic tests. **MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 73, p. 584–593, 2024. DOI: <http://dx.doi.org/10.15585/mmwr.mm7326a1>. Disponível em: <https://www.cdc.gov/mmwr/volumes/73/wr/mm7326a1.htm>. Acesso em: 13 nov. 2025.

Shen, C.; Shu, Q. Novel degenerate PCR primers targeting the β -galactosidase gene for broad-spectrum identification of lactose-degrading bacteria. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 41, n. 10, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11274-025-04601-6>. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/396205825_Novel_degenerate_PCR_primers_targeting_the_b-galactosidase_gene_for_broad-spectrum_identification_of_lactose-degrading_bacteria#fullTextFileContent. Acesso em: 5 nov. 2025.

Shindoh, S.; Kadoya, A.; Kanechi, R.; Watanabe, K.; Suzuki, S. Marine bacteria harbor the sulfonamide resistance gene *su14* without mobile genetic elements. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, p. 1230548, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1230548>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2023.1230548/full>. Acesso em: 20 out. 2025.

Shintani, M.; Sanchez, Z. K.; Kimbara, K. Genomics of microbial plasmids: classification and identification based on replication and transfer systems and host taxonomy. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, p. 242, 2015. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00242>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4379921/pdf/fmicb-06-00242.pdf>. Acesso em: 10 out. 2025.

Shoib, M.; He, Z.; Geng, X.; Tang, M.; Hao, R.; Wang, S.; Shang, R.; Wang, X.; Zhang, H.; Pu, W. The emergence of multi-drug resistant and virulence gene carrying *Escherichia coli* strains in the dairy environment: a rising threat to the environment, animal, and public health. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, p. 1197579, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1197579>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2023.1197579/full>. Acesso em: 19 out. 2025.

Silemg. **Mapa da produção de leite em Minas Gerais**. Belo Horizonte, 2021. Disponível em: <https://www.silemg.com.br/mapa-producao-leite-mg>. Acesso em: 06 jan. 2025.

Silva, A.; Silva, V.; Gomes, J. P.; Coelho, A.; Batista, R.; Saraiva, C.; Esteves, A.; Martins, Â.; Contente, D.; Diaz-Formoso, L. Cintas, L. M.; Igrejas, G.; Borges, V.; Poeta, P. *Listeria monocytogenes* from food products and food associated environments: antimicrobial resistance, genetic clustering and biofilm insights. **Antibiotics**, v. 13, p. 447, 2024. DOI: [10.3390/antibiotics13050447](https://doi.org/10.3390/antibiotics13050447). Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-6382/13/5/447>. Acesso em: 03 fev. 2025.

Silva, B. N.; Fernandes, N.; Carvalho, L.; Faria, A. S.; Teixeira, J. A.; Rodrigues, C.; Gonzales-Barron, U.; Cadavez, V. Lactic acid bacteria from artisanal raw goat milk cheeses: technological properties and antimicrobial potential. **Italian Journal of Food Safety**, v. 12, n. 4, 2023. DOI: <https://doi.org/10.4081/ijfs.2023.11559>. Disponível em: <https://www.pagepressjournals.org/ijfs/article/view/11559>. Acesso em: 8 maio 2025.

Silva, C. G.; Alessio, D. R. M.; Knob, D. A.; d'Ovidio, L.; Thaler Neto, A. Influência da sanificação da água e das práticas de ordenha na qualidade do leite. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 70, n. 2, p. 615-622, 2018. DOI: [10.1590/1678-4162-9466](https://doi.org/10.1590/1678-4162-9466). Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abmvz/a/j8xjWQTxGKSvPZCn7SFL9xp/?lang=pt>. Acesso em: 10 jan. 2025.

Silva, F. T. **Queijo minas frescal**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 50 p; Agroindústria Familiar. ISBN 85-7383-305-X. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/116395/1/00076200.pdf>. Acesso em: 06 jan. 2025.

Silva, R. A.; Oliveira, B. N. L.; Silva, L. P. A.; Oliveira, M. A.; Chaves, G. C. Antimicrobial resistance: formulation of the response in the global health context. **Saúde em Debate**, v. 44, n. 126, p. 607-623, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-1104202012602>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/sdeb/a/8sybmgm7ZxDmzF8stXfy9KS/?format=html>. Acesso em: 4 abr. 2025.

Singh, B.; Bhat, A.; Ravi, K. Antibiotics misuse and antimicrobial resistance development in agriculture: a global challenge. **Environmental Health**, v. 2, p. 618-622, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1021/envhealth.4c00094>. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/envhealth.4c00094>. Acesso em: 2 abr. 2025.

Sionek, B.; Szydłowska, A.; Küçüköz, K.; Kołożyn-Krajewska, D. Traditional and new microorganisms in lactic acid fermentation of food. **Fermentation**, v. 9, n. 12, 1019, 2023. DOI: [10.3390/fermentation9121019](https://doi.org/10.3390/fermentation9121019). Disponível em: <https://www.mdpi.com/2311-5637/9/12/1019>. Acesso em: 12 jan. 2025.

Siqueira, K. B. **Na era do consumidor: uma visão do mercado lácteo brasileiro**. Editor Técnico, Kennya Beatriz Siqueira. Juiz de Fora, MG: edição do autor, 2021. 220 p. Disponível em:

<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1134890>. Acesso em: 17 nov. 2025.

Smillie, C.; Garcillán-Barcia, M. P.; Francia, M. V.; Rocha, E. P.; De La Cruz, F. Mobility of plasmids. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 74, n. 3, p. 434-452, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1128/MMBR.00020-10>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2937521/pdf/0020-10.pdf>. Acesso em: 10 out. 2025.

Spencer, A. C.; Panda, S. S. DNA Gyrase as a target for quinolones. **Biomedicines**, v. 11, n. 2, p. e371, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/biomedicines11020371>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9953508/pdf/biomedicines-11-00371.pdf>. Acesso em: 19 out. 2025.

Stasiak, M.; Maćkiw, E.; Kowalska, J.; Kucharek, K.; Postupolski, J. Silent genes: Antimicrobial resistance and antibiotic production. **Polish Journal of Microbiology**, v. 70, n. 4, p. 421–429, 2021. DOI: [10.33073/pjm-2021-040](https://doi.org/10.33073/pjm-2021-040). Disponível em: <https://reference-global.com/article/10.33073/pjm-2021-040>. Acesso em: 12 nov. 2025.

Stephens, C.; Arismendi, T.; Wright, M.; Hartman, A.; Gonzalez, A.; Gill, M.; Pandori, M.; Hess, D. F Plasmids are the major carriers of antibiotic resistance genes in human-associated commensal *Escherichia coli*. **mSphere**, v. 5, n. 4, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1128/msphere.00709-20>. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/epub/10.1128/msphere.00709-20>. Acesso em: 8 out. 2025.

Suo, D.; Zhang, S.; Song, Z.; Wang, S.; Li, Y.; Fan, X. Simultaneous determination of 21 sulfonamides in poultry eggs using ionic liquid-modified molecularly imprinted polymer SPE and UPLC–MS/MS. **Molecules**, v. 27, n. 15, p. 4953, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27154953>. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules27154953>. Acesso em: 20 out. 2025.

Syroegin, E. A.; Flemmich, L.; Klepacki, D.; Vazquez-Laslop, N.; Micura, R.; Polikanov, Y. S. Structural basis for the context-specific action of the classic peptidyl transferase inhibitor chloramphenicol. **Nature Structural & Molecular Biology**, v. 29, n. 2, p. 152–161, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41594-022-00720-y>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9071271/pdf/nihms-1791601.pdf>. Acesso em: 19 out. 2025.

Swelum, A. A.; Elbestawy, A. R.; El-Saadony, M. T.; Hussein, E. O. S.; Alhotan, R.; Suliman, G. M.; Taha, A. E.; Ba-Awadh, H.; El-Tarabily, K. A.; Abd El-Hack, M. E. Ways to minimize bacterial infections, with special reference to *Escherichia coli*, to cope with the first-week mortality in chicks: an updated overview. **Poultry Science**, v. 100, n. 1, art. 101039, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101039>. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101039>. Acesso em: 12 out. 2025.

Tabaran, A.; Mihaiu, M.; Tăbăran, F.; Colobatiu, L.; Reget, O.; Borzan, M. M.; Dan, S. D. First study on characterization of virulence and antibiotic resistance genes in verotoxigenic and enterotoxigenic *E. coli* isolated from raw milk and unpasteurized

traditional cheeses in Romania. **Folia Microbiologica**, v. 62, p. 145–150, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12223-016-0481-8>. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12223-016-0481-8>. Acesso em: 10 nov. 2025.

Tao, S.; Chen, H.; Li, N.; Wang, T.; Liang, W. The spread of antibiotic resistance genes in vivo model. **Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology**, v. 2022, 11p., 2022. DOI: <https://doi.org/10.1155/2022/3348695>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9314185/pdf/CJIDMM2022-3348695.pdf>. Acesso em: 25 abr. 2025.

Teider Junior, P. I.; Ribeiro Júnior, J. C.; Ossugui, E. H.; Tamanini, R.; Ribeiro, J.; Santos, G. A.; Alfieri, A. A.; Beloti, V. *Pseudomonas* spp. and other psychrotrophic microorganisms in inspected and non-inspected Brazilian Minas Frescal cheese: proteolytic, lipolytic and *AprX* production potential. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 39, n. 10, p. 807-815, 2019. DOI: [10.1590/1678-5150-PVB-6037](https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-6037). Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pvb/a/m6Fnv8RPwvHNdG4VppSkJfG/?lang=en>. Acesso em: 07 jan. 2025.

Tereucán-Angulo, J.; Torralbo-Barría, L.; Barchiesi-Ferrari, C.; Valenzuela-Aravena, S.; Catrilaf-González, S.; Mora-Chepo, M. The artisanal cheese factory in the context of the Araucanía Region - Chile. **International Journal of Mechanical Sciences and Technology**, v. 10, n. 1, p. 1414-1423, 2023. DOI: [10.15379/ijmst.v10i1.2894](https://doi.org/10.15379/ijmst.v10i1.2894). Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/375022361> The Artisanal Cheese Factory in the Context of the Araucania Region - Chile. Acesso em: 01 fev. 2025.

Tevyashova, A. N. Recent trends in synthesis of chloramphenicol new derivatives. **Antibiotics**, v. 10, n. 4, p. 370, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics10040370>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-6382/10/4/370>. Acesso em: 19 out. 2025.

Thermo Fisher Scientific. **PCR Setup—Six Critical Components to Consider**. Waltham, MA: Thermo Fisher Scientific, 2025. Disponível em: <https://www.thermofisher.com/br/en/home/life-science/cloning/cloning-learning-center/invitrogen-school-of-molecular-biology/pcr-education/pcr-reagents-enzymes/pcr-component-considerations.html>. Acesso em: 20 out. 2025.

Touaitia, R.; Mairi, A.; Ibrahim, N. A.; Basher, N. S.; Idres, T.; Touati, A. *Staphylococcus aureus*: a review of the pathogenesis and virulence mechanisms. **Antibiotics**, v. 14, n. 5, p. 470, 2025. DOI: [10.3390/antibiotics14050470](https://doi.org/10.3390/antibiotics14050470). Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-6382/14/5/470>. Acesso em: 07 jun. 2025.

Ugbo, E. N.; Effendi, M. H.; Ugbo, A. I.; Tyasningsih, W.; Agumah, B. N.; Raharjo, H. M.; Khairullah, A. R.; Ogba, R. C.; Ekawasti, F.; Yanestria, S. M.; Moses, I. B.; Riwu, K. H. P. Molecular identification of tetracycline resistance genes in *Escherichia coli* isolates from internal organs of swine sold on Abakaliki, Nigeria. **Open Veterinary Journal**, v. 15, n. 1, p. 171-178, 2025. DOI: [http://dx.doi.org/10.5455/OVJ.2025.v15.i1.16](https://dx.doi.org/10.5455/OVJ.2025.v15.i1.16). Disponível em: <https://www.openveterinaryjournal.com/fulltext/100-1724810256.pdf?1760681389>. Acesso em: 17 out. 2025.

Unesco. Modos de fazer o queijo Minas artesanal integram lista do Patrimônio Cultural Imaterial da UNESCO, 2024. Disponível em: <https://www.unesco.org/pt/articles/modos-de-fazer-o-queijo-minas-artesanal-integram-lista-do-patrimonio-cultural-imaterial-da-unesco>. Acesso em: 07 jan. 2025.

United Nations. **Political Declaration of the High-Level Meeting on Antimicrobial Resistance.** New York: United Nations, 2024. Disponível em: <https://www.un.org/pga/wp-content/uploads/sites/108/2024/09/FINAL-Text-AMR-to-PGA.pdf>. Acesso em: 5 abr. 2025.

United Nations General Assembly. **Political declaration of the high-level meeting on antimicrobial resistance.** New York: United Nations, 2024. Disponível em: <https://www.un.org/pga/wp-content/uploads/sites/108/2024/09/FINAL-Text-AMR-to-PGA.pdf>. Acesso em: 29 set. 2025.

University of Guelph. **Dairy Science and Technology: Principles and Applications.** Guelph: University of Guelph, 2018. Ebook. Capítulo: Starter cultures. Disponível em: <https://books.lib.uoguelph.ca/dairyscienceandtechnologyebook/chapter/starter-cultures/>. Acesso em: 10 jan. 2025.

Urmi, U. L.; Nahar, S.; Rana, M.; Sultana, F.; Jahan, N.; Hossain, B.; Alam, M. S.; Mosaddek, A. S. M.; Mckimm, J.; Rahman, N. A. A.; Islam, S.; Haque, M. Genotypic to Phenotypic resistance discrepancies identified involving beta-lactamase genes, blaKPC, blaIMP, blaNDM-1, and blaVIM in uropathogenic *Klebsiella pneumoniae*. **Infection and Drug Resistance**, v. 13, p. 2863–2875, 2020. DOI: [10.2147/IDR.S262493](https://doi.org/10.2147/IDR.S262493). Disponível em: <https://doi.org/10.2147/IDR.S262493>. Acesso em: 15 nov. 2025.

Van Boeckel, T. P.; Pires, J.; Silvester, R.; Zhao, C.; Song, J.; Criscuolo, N. G.; Gilbert, M.; Bonhoeffer, S.; Laxminarayan, R. Global trends in antimicrobial resistance in animals in low- and middle-income countries. **Science**, v. 365, n. 6459, p. 1266, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.aaw1944>. Disponível em: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.aaw1944>. Acesso em: 3 abr. 2025.

Van, T. T. H.; Chin, J.; Chapman, T.; Tran, L. T.; Coloe, P. J. Safety of raw meat and shellfish in Vietnam: An analysis of *Escherichia coli* isolations for antibiotic resistance and virulence genes. **International Journal of Food Microbiology**, v. 124, n. 3, p. 217–223, 2008. DOI: [10.1016/j.ijfoodmicro.2008.03.029](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.03.029). Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.03.029>. Acesso em: 20 out. 2025.

Vanstokstraeten, R.; Crombé, F.; Piérard, D.; Castillo Moral, A.; Wybo, I.; De Geyter, D.; Janssen, T.; Caljon, B.; Demuyser, T. Molecular characterization of extraintestinal and diarrheagenic *Escherichia coli* blood isolates. **Virulence**, v. 13, n. 1, p. 2032–2041, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1080/21505594.2022.2147735>. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9704385/pdf/KVIR_13_2147735.pdf. Acesso em: 20 fev. 2025.

Vásquez-Jaramillo, L.; Cardozo-Herrera, L. K.; Correa Valencia, N. M. P. A systematic review of tetracycline resistance genes in animals and derived products in Latin America and the Caribbean. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal**

Science, v. 60, e213883, 2023. DOI: [10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2023.213883](https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2023.213883). Disponível em: <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2023.213883>. Acesso em: 15 nov. 2025.

Venkatesan, M.; Fruci, M.; Verellen, L. A.; Skarina, T.; Mesa, N.; Flick, R.; Pham, C.; Mahadevan, R.; Stogios, P. J.; Savchenko, A. Molecular mechanism of plasmid-borne resistance to sulfonamide antibiotics. **Nature Communications**, v. 14, 4031, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-023-39778-7>. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41467-023-39778-7>. Acesso em: 20 out. 2025.

Venter, H.; Henningsen, M. L.; Begg, S. L. Antimicrobial resistance in healthcare, agriculture and the environment: the biochemistry behind the headlines. **Essays in Biochemistry**, v. 61, n. 1, p. 1–10, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1042/EBC20160053>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5900547/pdf/ebc-61-ebc20160053.pdf>. Acesso em: 25 abr. 2025.

Verma, S. K.; Verma, R.; Xue, F.; Thakur, P. K.; Girish, Y. R.; Rakesh, K. P. Antibacterial activities of sulfonyl or sulfonamide containing heterocyclic derivatives and its structure-activity relationships (SAR) studies: A critical review. **Bioorganic Chemistry**, v. 105, p. 104400, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.104400>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045206820316989?via%3Dihub>. Acesso em: 20 out. 2025.

Vice, Z.; Zhou, Y.; Chitlapilly Dass, S.; Wang, R. Microscopic analysis of temperature effects on surface colonization and biofilm morphology of *Salmonella enterica*. **Foods**, v. 14, n. 2, p. 268, 2025. DOI: [10.3390/foods14020268](https://doi.org/10.3390/foods14020268). Disponível em: <https://www.mdpi.com/2304-8158/14/2/268>. Acesso em: 04 nov. 2025.

Vk, D.; Srikumar, S.; Shetty, S.; Van Nguyen, S.; Karunasagar, I.; Fanning, S. Silent antibiotic resistance genes: A threat to antimicrobial therapy. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 79, p. 20, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2018.11.063>. Disponível em: [https://www.ijidonline.com/article/S1201-9712\(18\)34642-3/fulltext](https://www.ijidonline.com/article/S1201-9712(18)34642-3/fulltext). Acesso em: 17 nov. 2025.

Ye, D.; Sun, J.; Jiang, R.; Chang, J.; Liu, Y.; Wu, X.; Li, L.; Luo, Y.; Wang, J.; Guo, K.; Yang, Z. β -lactam antibiotics induce metabolic perturbations linked to ROS generation leads to bacterial impairment. **Frontiers in Microbiology**, v. 15, p. 1514825, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1514825>. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1514825>. Acesso em: 14 out. 2025.

Yoon, S.; Lee, Y. J. Molecular characteristics of *Escherichia coli* from bulk tank milk in Korea. **Journal of Veterinary Science**, v. 23, n. 1, p. e9, 2022. DOI: [10.4142/jvs.21084](https://doi.org/10.4142/jvs.21084). Disponível em: <https://doi.org/10.4142/jvs.21084>. Acesso em: 16 nov. 2025.

Yordanova, R.; Platikanova, M.; Hristova, P. The use of antibiotics in food animals – a threat to human health. **Journal of IMAB**, v. 30, n. 2, p. 5495–5501, 2024. DOI:

[10.5272/jimab.2024302.5495](https://doi.org/10.5272/jimab.2024302.5495). Disponível em: <https://doi.org/10.5272/jimab.2024302.5495>. Acesso em: 15 nov. 2025.

Yu, T.; Zeng, F. Chloramphenicol Interferes with 50S Ribosomal Subunit Maturation via Direct and Indirect Mechanisms. **Biomolecules**, v. 14, n. 10, p. 1225, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/biom14101225>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11505724/pdf/biomolecules-14-01225.pdf>. Acesso em: 19 out. 2025.

Yun, M. K.; Wu, Y.; Li, Z.; Zhao, Y.; Waddell, M. B.; Ferreira, A. M.; Lee, R. E.; Bashford, D.; White, S. W. Catalysis and sulfa drug resistance in dihydropteroate synthase. **Science**, v. 335, n. 6072, p. 1110–1114, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1214641>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3531234/pdf/nihms427939.pdf>. Acesso em: 20 out. 2025.

Wagner, T. M.; Howden, B. P.; Sundsfjord, A.; Hegstad, K. Transiently silent acquired antimicrobial resistance: an emerging challenge in susceptibility testing. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 78, n. 3, p. 586–598, 2023. DOI: [10.1093/jac/dkad024](https://doi.org/10.1093/jac/dkad024). Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jac/dkad024>. Acesso em: 12 nov. 2025.

Waldron, L. S.; Gillings, M. R. Screening foodstuffs for class 1 integrons and gene cassettes. **Journal of Visualized Experiments**, n. 100, p. e52889, 2015. DOI: <https://doi.org/10.3791/52889>. Disponível em: <https://doi.org/10.3791/52889>. Acesso em: 20 out. 2025.

Walker, D. I.; Mcquillan, J.; Taiwo, M.; Parks, R.; Stenton, C. A.; Morgan, H.; Mowlem, M. C.; Lees, D. N. A highly specific *Escherichia coli* qPCR and its comparison with existing methods for environmental waters. **Water Research**, v. 126, p. 101–110, dez. 2017. DOI: [10.1016/j.watres.2017.08.032](https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.08.032). Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.08.032>. Acesso em: 8 nov. 2025.

Wang, D.; Ning, Q.; Deng, Z.; Zhang, M.; You, J. Role of environmental stresses in elevating resistance mutations in bacteria: phenomena and mechanisms. **Environmental Pollution**, v. 307, 13 p., 15 ago. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119603>. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119603>. Acesso em: 15 mai. 2025.

Wang, Y.; Zhang, W.; Mhungu, F.; Zhang, Y.; Liu, Y.; Li, Y.; Luo, X.; Pan, X.; Huang, J.; Zhong, X.; Song, S.; Li, H.; Liu, Y.; Chen, K. Probabilistic risk assessment of dietary exposure to chloramphenicol in Guangzhou, China. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 18, n. 16, p. 8805, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph18168805>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1660-4601/18/16/8805>. Acesso em: 17 nov. 2025.

Wang, X.; Zhang, H.; Yu, S.; Li, D.; Gillings, M. R.; Ren, H.; Mao, D.; Guo, J.; Luo, Y. Inter-plasmid transfer of antibiotic resistance genes accelerates antibiotic resistance in bacterial pathogens. **The ISME Journal**, v. 18, n. 1, 2024. DOI:

<https://doi.org/10.1093/ismejo/wrad032>. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/ismejo/wrad032>. Acesso em: 17 out. 2025.

Watkins, L.; Li, M.; Wu, B. Translation elongation: measurements and applications. **RNA Biology**, v. 22, n. 1, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1080/15476286.2025.2504727>. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC12087489/pdf/KRNB_22_2504727.pdf. Acesso em: 20 out. 2025

Weber, D. J.; Rutala, W. A.; Anderson, D. J.; Sickbert-Bennett, E. E. Biofilms on medical instruments and surfaces: do they interfere with instrument reprocessing and surface disinfection. **American Journal of Infection Control**, v. 51, n. 11, p. A114–A119, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2023.04.158>. Disponível em: <https://www.ajicjournal.org/article/S0196-6553%2823%2900314-0/fulltext>. Acesso em: 09 nov. 2025.

Wei, M.; Han, C.; Zhou, X.; Tong, T.; Zhang, J.; Ji, X.; Zhang, P.; Zhang, Y.; Liu, Y.; Zhang, X.; Cai, T.; Xie, C. Filamentous morphology engineering of bacteria by iron metabolism modulation through MagR expression. **Synthetic and Systems Biotechnology**, v. 9, n. 3, p. 522–530, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.synbio.2024.04.009>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11031723/pdf/main.pdf>. Acesso em: 18 fev. 2025.

Werth, B. J. Sulfonamides. In: MERCK MANUAL. **Merck Manual Professional Version: Infectious Diseases: Bacteria and Antibacterial Medications**. 2024. Disponível em: <https://www.merckmanuals.com/professional/infectious-diseases/bacteria-and-antibacterial-medications/sulfonamides>. Acesso em: 20 out. 2025.

Wesguerber, T.; Pinto, A. C. P.; Santos, A. C. M.; Pierre, L. Dos S. S.; Rocha, L. S.; Faria, R. D. R. De; Galeb, L. Do A. G. A influência do uso de antimicrobianos na produção animal e o impacto nos produtos derivados destinados à alimentação humana e animal. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 7, n. 3, p. e71369, 2024. DOI: [10.34188/bjaerv7n3-012](https://doi.org/10.34188/bjaerv7n3-012). Disponível em: <https://doi.org/10.34188/bjaerv7n3-012>. Acesso em: 2 abr. 2025.

Williams, C. T.; Musicha, P.; Feasey, N. A.; Adams, E. R.; Edwards, T. ChloS-HRM, a novel assay to identify chloramphenicol-susceptible *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Malawi. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 74, n. 5, p. 1212–1217, 2019. DOI: [10.1093/jac/dky563](https://doi.org/10.1093/jac/dky563). Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jac/dky563>. Acesso em: 17 nov. 2025.

Willis, C.; Mclauchlin, J.; Aird, H.; Jørgensen, F.; Lai, S.; Sadler-Reeves, L. Assessment of the microbiological quality and safety of unpasteurized milk cheese for sale in England between 2019 and 2020. **Journal of Food Protection**, v. 85, n. 2, p. 278-286, 2022. DOI: [10.4315/JFP-21-247](https://doi.org/10.4315/JFP-21-247). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0362028X22061403?via%3DiHub>. Acesso em: 01 fev. 2025.

Willyard, C. The drug-resistant bacteria that pose the greatest health threats. **Nature**, v. 543, n. 15, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature.2017.21550>. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nature.2017.21550>. Acesso em: 15 out. 2025.

Wojnarowski, K.; Cholewińska, P.; Zhao, D.; Pacoń, J.; Bodkowski, R. Antibiotic resistance genes in food animal production: environmental implications and one health challenges. **Environments**, v. 12, n. 11, 427, 2025. DOI: [10.3390/environments12110427](https://doi.org/10.3390/environments12110427). Disponível em: <https://doi.org/10.3390/environments12110427>. Acesso em: 15 nov. 2025.

Wolny-Koładka, K.; Lenart-Boroń, A. Phenotypic and molecular assessment of drug resistance profile and genetic diversity of waterborne *Escherichia coli*. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 227, n. 146, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11270-016-2833-z>. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11270-016-2833-z>. Acesso em: 10 nov. 2025.

World Health Organization (WHO). 2025a. **Foodborne diseases**. Genebra: WHO, 2025a. Disponível em: <https://www.who.int/health-topics/foodborne-diseases>. Acesso em: 20 set. 2025.

World Health Organization (WHO). 2025b. **Foodborne diseases estimates**. Global Health Observatory, 2025b. Disponível em: <https://www.who.int/data/gho/data/themes/who-estimates-of-the-global-burden-of-foodborne-diseases>. Acesso em: 20 set. 2025.

World Health Organization (WHO). 2024. **WHO List of Medically Important Antimicrobials: A risk management tool for mitigating antimicrobial resistance due to non-human use**. 2024. 6. rev. ISBN 978-92-4-008461-2 (versão eletrônica). Disponível em: <https://cdn.who.int/media/docs/default-source/gcp/who-mia-list-2024-1v.pdf>. Acesso em: 18 out. 2025.

World Health Organization (WHO). 2020. **WHO methods and data sources for global burden of disease estimates 2000-2019**. Geneva: WHO, 2020. (Global Health Estimates Technical Paper WHO/DDI/DNA/GHE/2020.3). Disponível em: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/gho-documents/global-health-estimates/ghe2019_daly-methods.pdf?sfvrsn=31b25009_7. Acesso em: 21 jan. 2025.

World Health Organization (WHO). 2022. **Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS) report 2022**. Genebra: WHO, 2022. ISBN 978-92-4-006270-2 (versão eletrônica). Disponível em: <https://iris.who.int/server/api/core/bitstreams/e5cc3da6-f46e-4355-a352-8d16820e0dd1/content>. Acesso em: 6 jun. 2025.

World Health Organization (WHO). 2021. **Global Tricycle Surveillance - ESBL *E. coli*. WHO integrated global surveillance on ESBL-producing *E. coli* using a “One Health” approach: implementation and opportunities**. Genebra: World Health Organization, 2021. ISBN 978-92-4-002140-2 (versão eletrônica). Disponível em: <https://iris.who.int/server/api/core/bitstreams/f1332c05-92d6-4d89-b69c-2937e8ffa307/content>. Acesso em: 6 jun. 2025.

Wu, D.; Dai, S.; Feng, H.; Karunaratne, S. H. P. P.; Yang, M.; Zhang, Y. Persistence and potential risks of tetracyclines and their transformation products in two typical different animal manure composting treatments. **Environmental Pollution**, v. 341, p. 122904, 2024. DOI: [10.1016/j.envpol.2023.122904](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.122904). Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.122904>. Acesso em: 15 nov. 2025.

Wu, H.; Dong, W.; Hu, X.; Xie, C.; Yang, X.; Li, C.; Li, G.; Lu, Y.; You, X. Silent or low expression of blaTEM and blaSHV suggests potential for targeted proteomics in clinical detection of beta-lactamase-related antimicrobial resistance. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 15, n. 7, 101220, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2025.101220>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2095177925000371>. Acesso em: 12 nov. 2025.

Xie, M.; Xu, J.; Fei, D.; Guang, Y. L.; Zhou, Y. M.; Li, F.; Hu, L. Z. Determination of sulfonamide antibiotics in forage grasses by an improved QuEChERS and multi-plug filtration cleanup method combined with UHPLC-MS/MS. **RSC Advances**, v. 14, p. 34261–34269, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1039/D4RA04330H>. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlepdf/2024/ra/d4ra04330h>. Acesso em: 20 out. 2025.

Xu, C.; Kong, L.; Liao, Y.; Tian, Y.; Wu, Q.; Liu, H.; Wang, X. Mini-review: Antibiotic-resistant *Escherichia coli* from farm animal-associated sources. **Antibiotics**, v. 11, n. 11, 17 p., 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics11111535>. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antibiotics11111535>. Acesso em: 9 out. 2025.

Zapaśnik, A.; Sokołowska, B.; Bryła, M. Role of lactic acid bacteria in food preservation and safety. **Foods**, v. 11, n. 9, p. 1283, 2022. DOI: [10.3390/foods11091283](https://doi.org/10.3390/foods11091283). Disponível em: <https://www.mdpi.com/2304-8158/11/9/1283>. Acesso em: 10 jan. 2025.

Zarei Ahmady, A.; Alyan Aliabadi, R.; Amin, M.; Ameri, A.; Abbasi Montazeri, E. Occurrence of diarrheagenic *Escherichia coli* pathotypes from raw milk and unpasteurized buttermilk by culture and multiplex polymerase chain reaction in southwest Iran. **Molecular Biology Reports** v. 50, n. 4, p. 3661–3667, 2023. DOI: [10.1007/s11033-023-08261-3](https://doi.org/10.1007/s11033-023-08261-3). Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11033-023-08261-3>. Acesso em: 8 nov. 2025.

Zechiedrich, E. L.; Khodursky, A. B.; Cozzarelli, N. R. Topoisomerase IV, not gyrase, decatenates products of site-specific recombination in *Escherichia coli*. **Genes & Development**, v. 11, n. 19, p. 2580–2592, 1997. DOI: <https://doi.org/10.1101/gad.11.19.2580>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9334322/>. Acesso em: 29 dez. 2025.

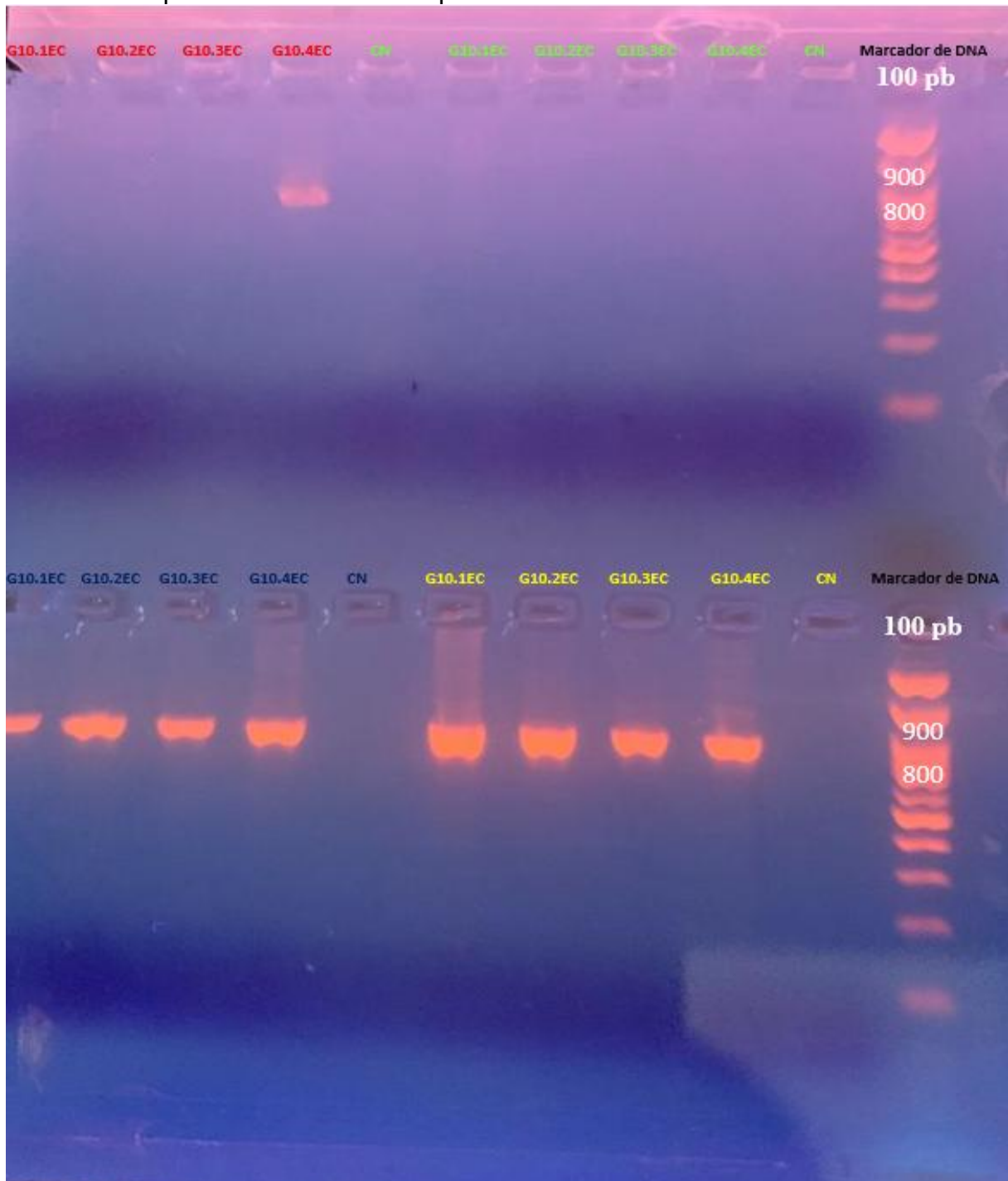
Zhang, S.; Liao, X.; Ding, T.; Ahn, J. Role of β -lactamase inhibitors as potentiators in antimicrobial chemotherapy targeting gram-negative bacteria. **Antibiotics**, v. 13, n. 3, p. 260, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics13030260>. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antibiotics13030260>. Acesso em: 15 out. 2025.

Zhu, H.; Xiong, Y.; Jiang, Z.; Liu, Q.; Wang, J. Quantifying dynamic phenotypic heterogeneity in resistant *escherichia coli* under translation-inhibiting antibiotics. **Advanced Science**, v. 11, n. 11, p. e2304548, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1002/adv.202304548>. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/adv.202304548>. Acesso em: 12 nov. 2025.

Zimoń, B.; Psujeck, M.; Matczak, J.; Guziński, A.; Wójcik, E.; Dastyk, J. Novel multiplex-PCR test for *Escherichia coli* detection. **Microbiology Spectrum**, v. 12, n. 6, jun. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1128/spectrum.03773-23>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11237426/pdf/spectrum.03773-23.pdf>. Acesso em: 8 nov. 2025.

APÊNDICE

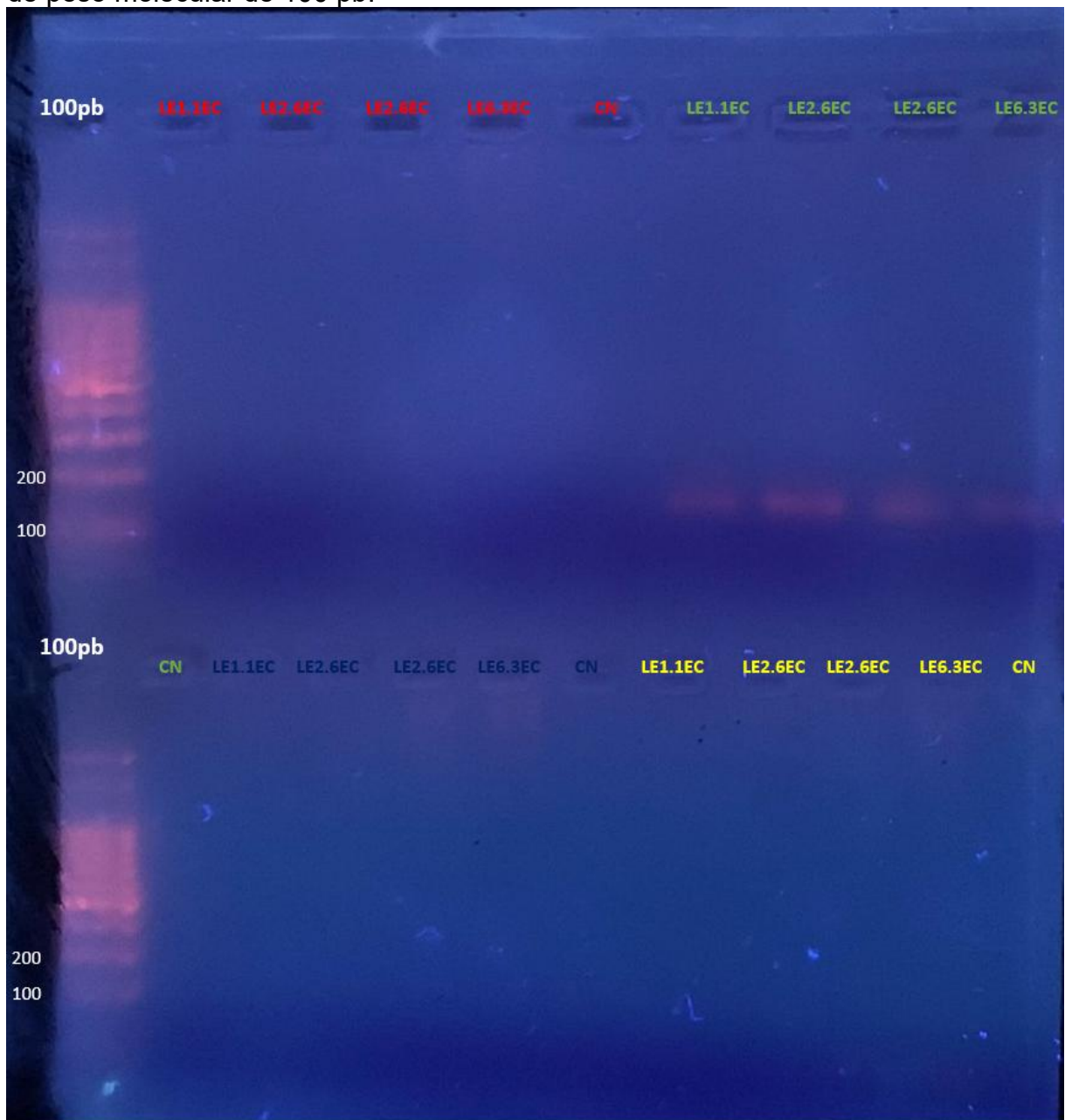
Apêndice 1 - Gel de agarose a 2% (p/v) para identificação do gene de confirmação *lacZB*, corados com brometo de etídio e visualizados sob luz ultravioleta com marcador de peso molecular de 100 pb.



Fonte: elaboração própria.

Legenda: as cores vermelho, verde, azul e amarelo são em relação as concentrações de reagentes que foram utilizadas; pb: pares de bases. Tamanho esperado do produto: 876 pb (Molina *et al.*, 2015).

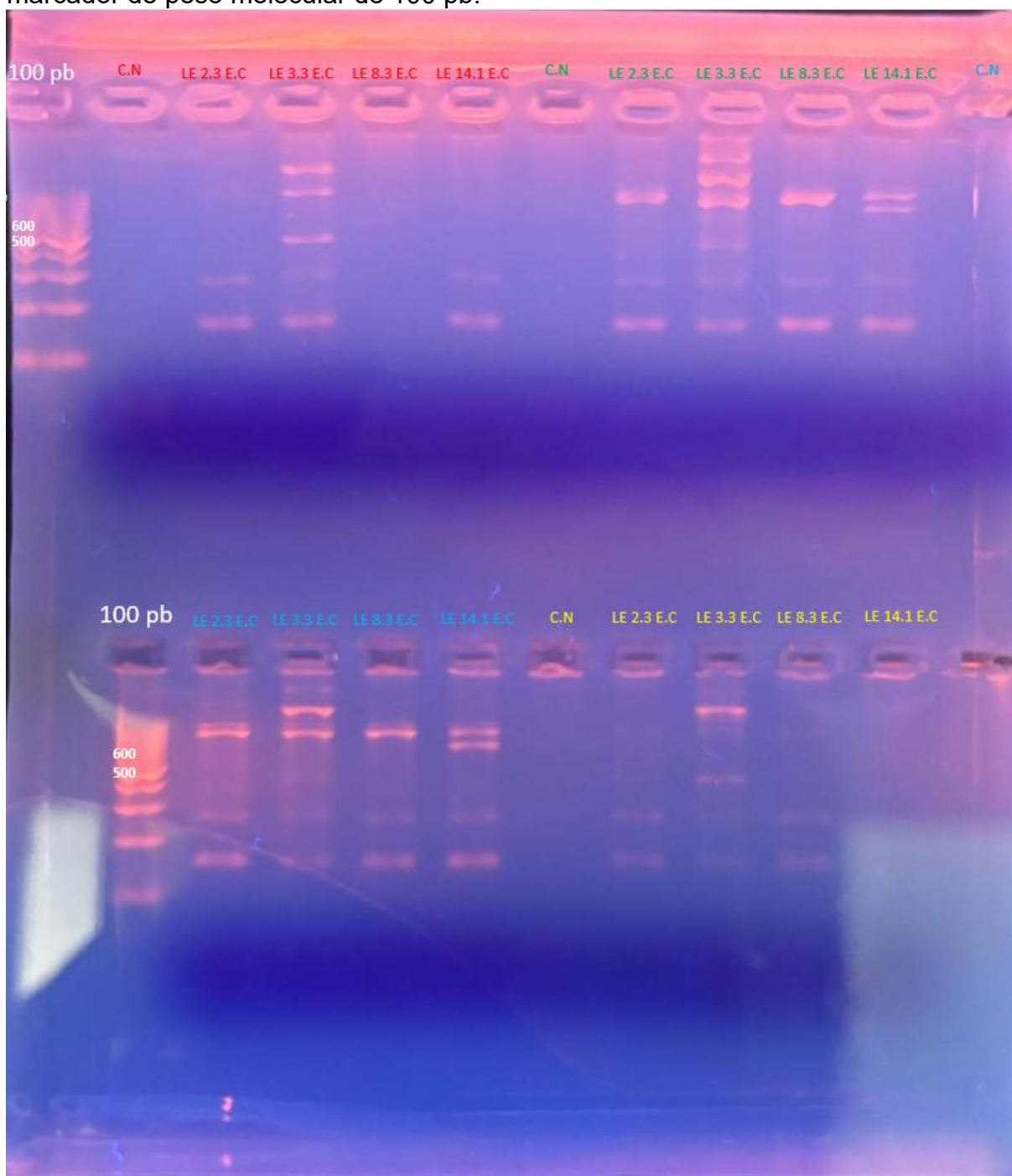
Apêndice 2 – Gel de agarose a 2% (p/v) para identificação do gene de confirmação *uidA*, corados com brometo de etídio e visualizados sob luz ultravioleta com marcador de peso molecular de 100 pb.



Fonte: elaboração própria.

Legenda: as cores vermelho, verde, azul e amarelo são em relação as concentrações de reagentes que foram utilizadas; pb: pares de bases. Tamanho esperado do produto: 162 pb (Molina *et al.*, 2015).

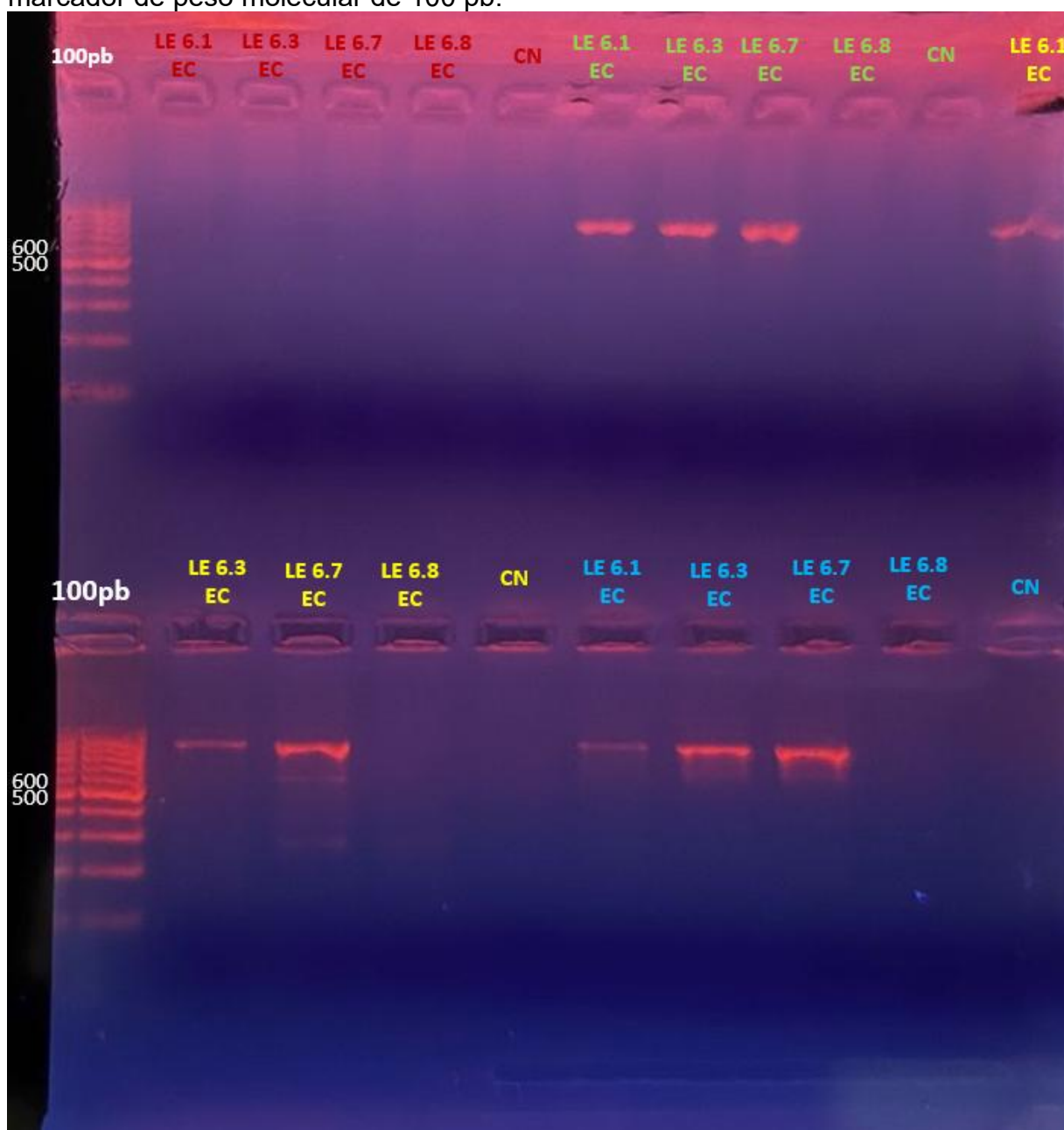
Apêndice 3 – Gel de agarose a 2% (p/v) para identificação do gene de resistência *bla*_{CTX-M}, corados com brometo de etídio e visualizados sob luz ultravioleta com marcador de peso molecular de 100 pb.



Fonte: elaboração própria.

Legenda: as cores vermelho, verde, azul e amarelo são em relação as concentrações de reagentes que foram utilizadas; pb: pares de bases. Tamanho esperado do produto: 592 pb (Boyd *et al.*,2004.).

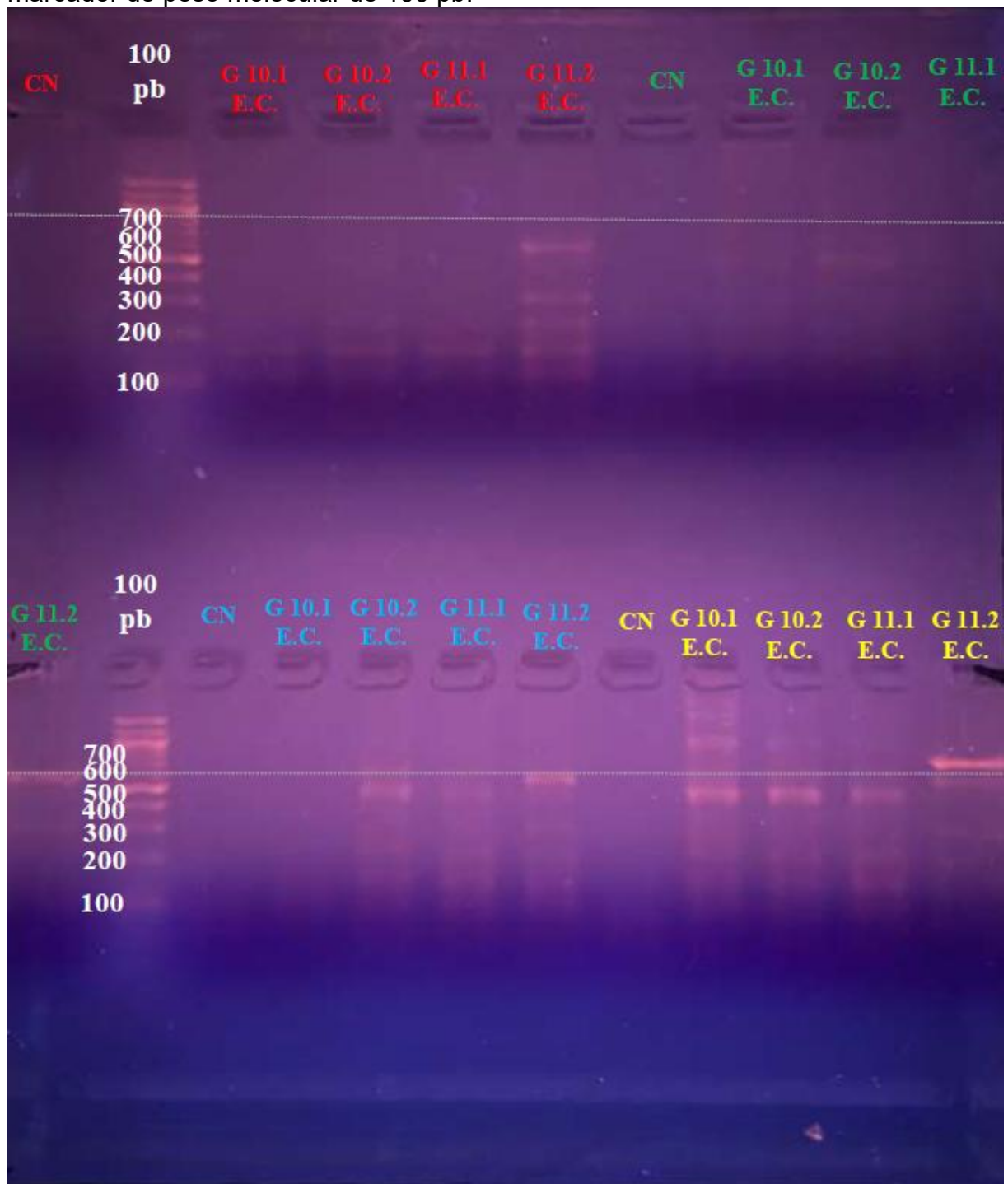
Apêndice 4 – Gel de agarose a 2% (p/v) para identificação do gene de resistência *bla_{TEM}*, corados com brometo de etídio e visualizados sob luz ultravioleta com marcador de peso molecular de 100 pb.



Fonte: elaboração própria.

Legenda: as cores vermelho, verde, azul e amarelo são em relação as concentrações de reagentes que foram utilizadas; pb: pares de bases. Tamanho esperado do produto: 506 pb (Gundran *et al.*, 2019.).

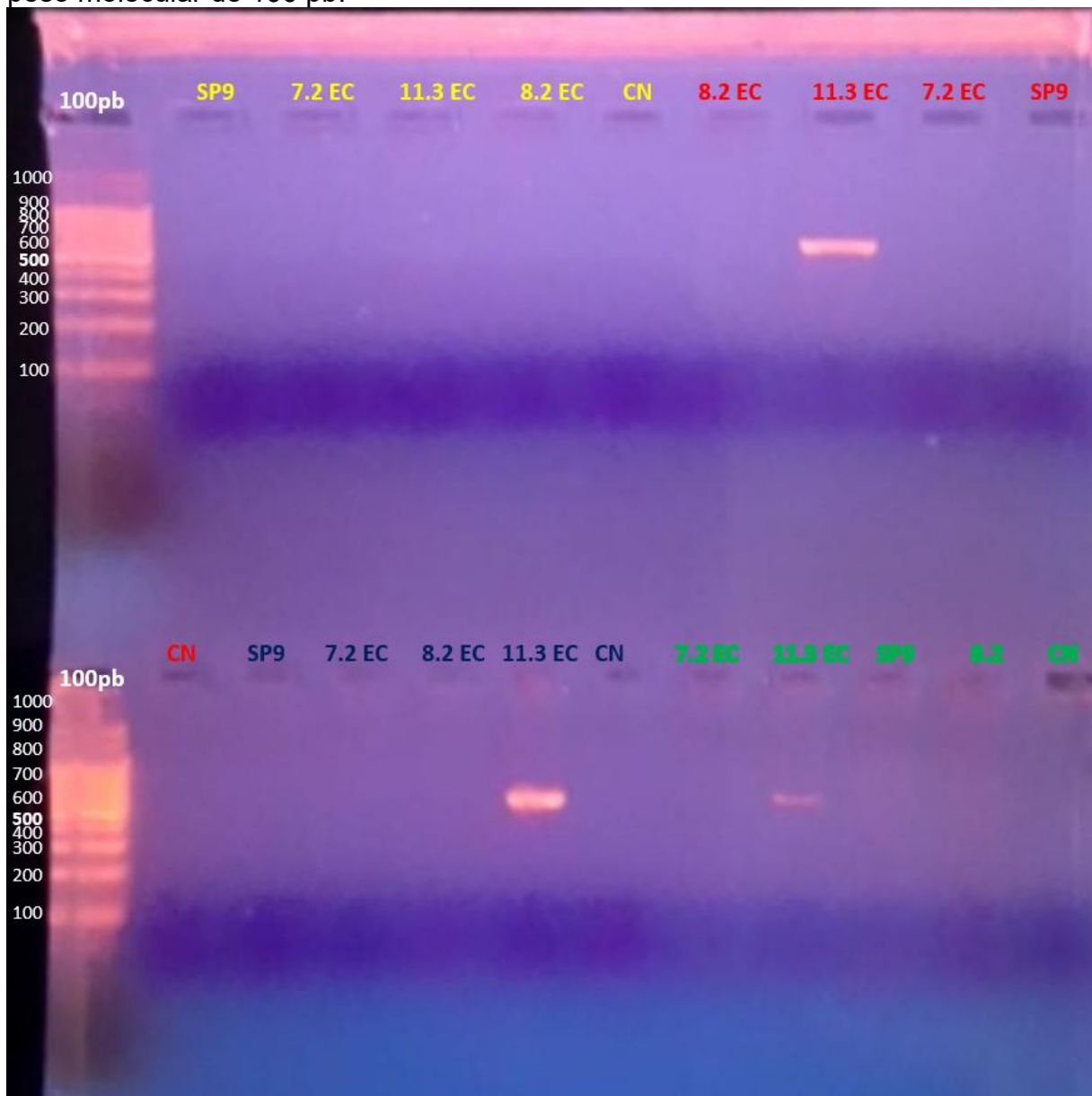
Apêndice 5 – Gel de agarose a 2% (p/v) para identificação do gene de resistência *bla_{SHV}*, corados com brometo de etídio e visualizados sob luz ultravioleta com marcador de peso molecular de 100 pb.



Fonte: elaboração própria.

Legenda: as cores vermelho, verde, azul e amarelo são em relação as concentrações de reagentes que foram utilizadas; pb: pares de bases. Tamanho esperado do produto: 628 pb (Gundran *et al.*, 2019).

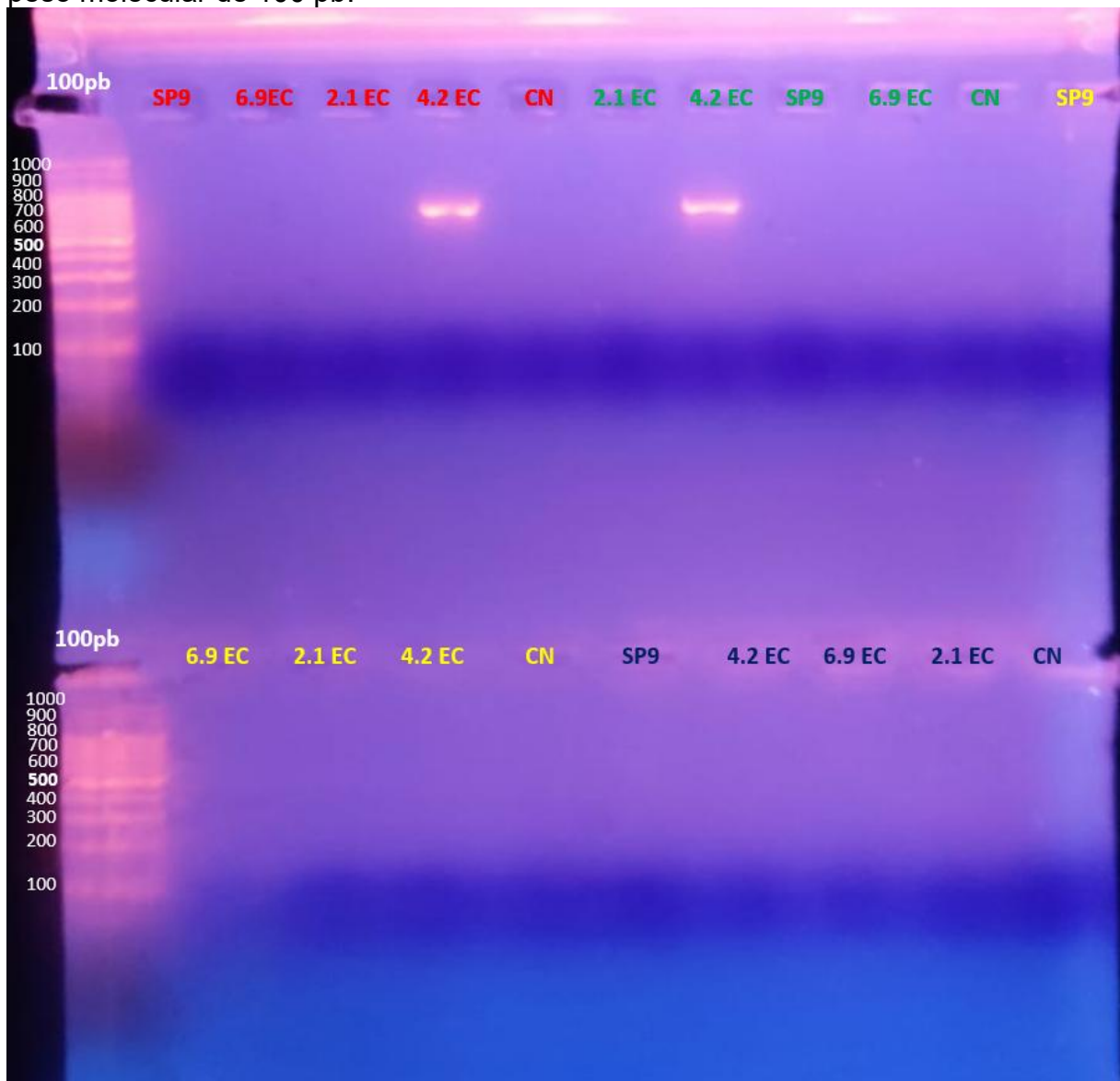
Apêndice 6 – Gel de agarose a 2% (p/v) para identificação do gene de resistência *tetA*, corados com brometo de etídio e visualizados sob luz ultravioleta com marcador de peso molecular de 100 pb.



Fonte: elaboração própria.

Legenda: as cores vermelho, verde, azul e amarelo são em relação as concentrações de reagentes que foram utilizadas; pb: pares de bases. Tamanho esperado do produto: 502 pb (Belaynehe *et al.*, 2018).

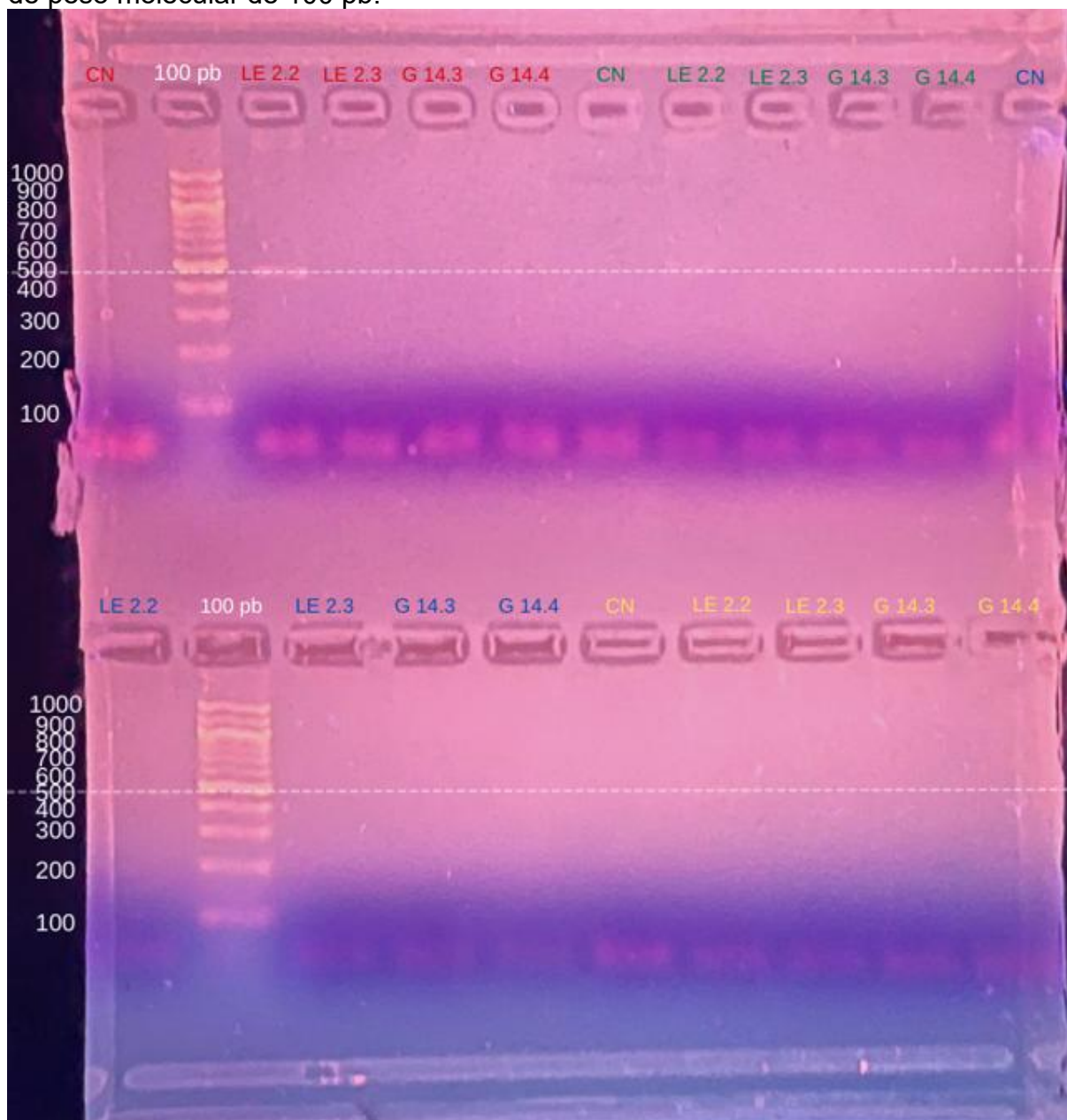
Apêndice 7 – Gel de agarose a 2% (p/v) para identificação do gene de resistência *tetB*, corados com brometo de etídio e visualizados sob luz ultravioleta com marcador de peso molecular de 100 pb.



Fonte: elaboração própria.

Legenda: as cores vermelho, verde, azul e amarelo são em relação as concentrações de reagentes que foram utilizadas; pb: pares de bases. Tamanho esperado do produto: 659 pb (Ahmed *et al.*, 2010).

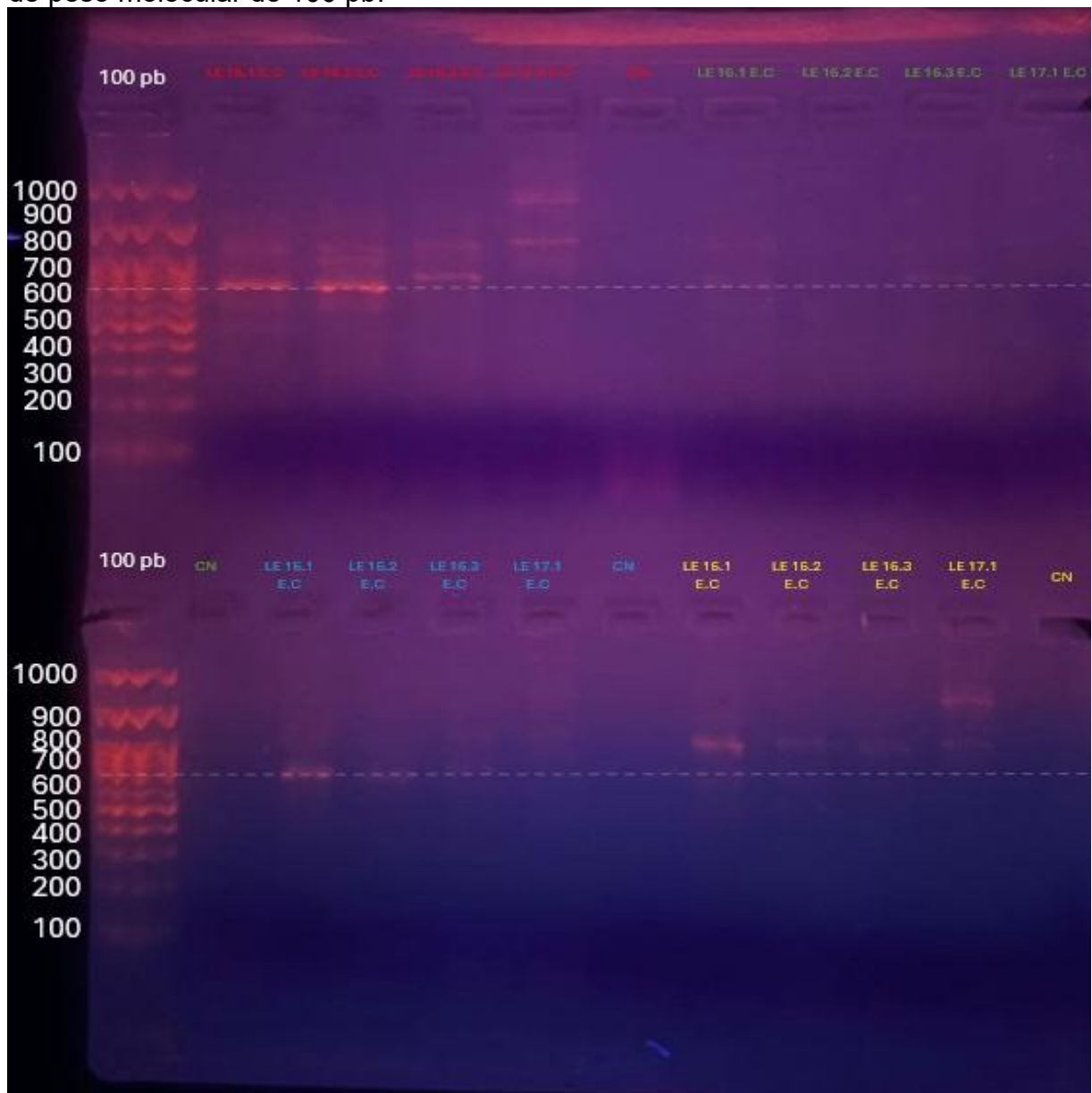
Apêndice 8 – Gel de agarose a 2% (p/v) para identificação do gene de resistência *cat1*, corados com brometo de etídio e visualizados sob luz ultravioleta com marcador de peso molecular de 100 pb.



Fonte: elaboração própria.

Legenda: as cores vermelho, verde, azul e amarelo são em relação as concentrações de reagentes que foram utilizadas; pb: pares de bases. Tamanho esperado do produto: 547 pb (Van *et al.*, 2008).

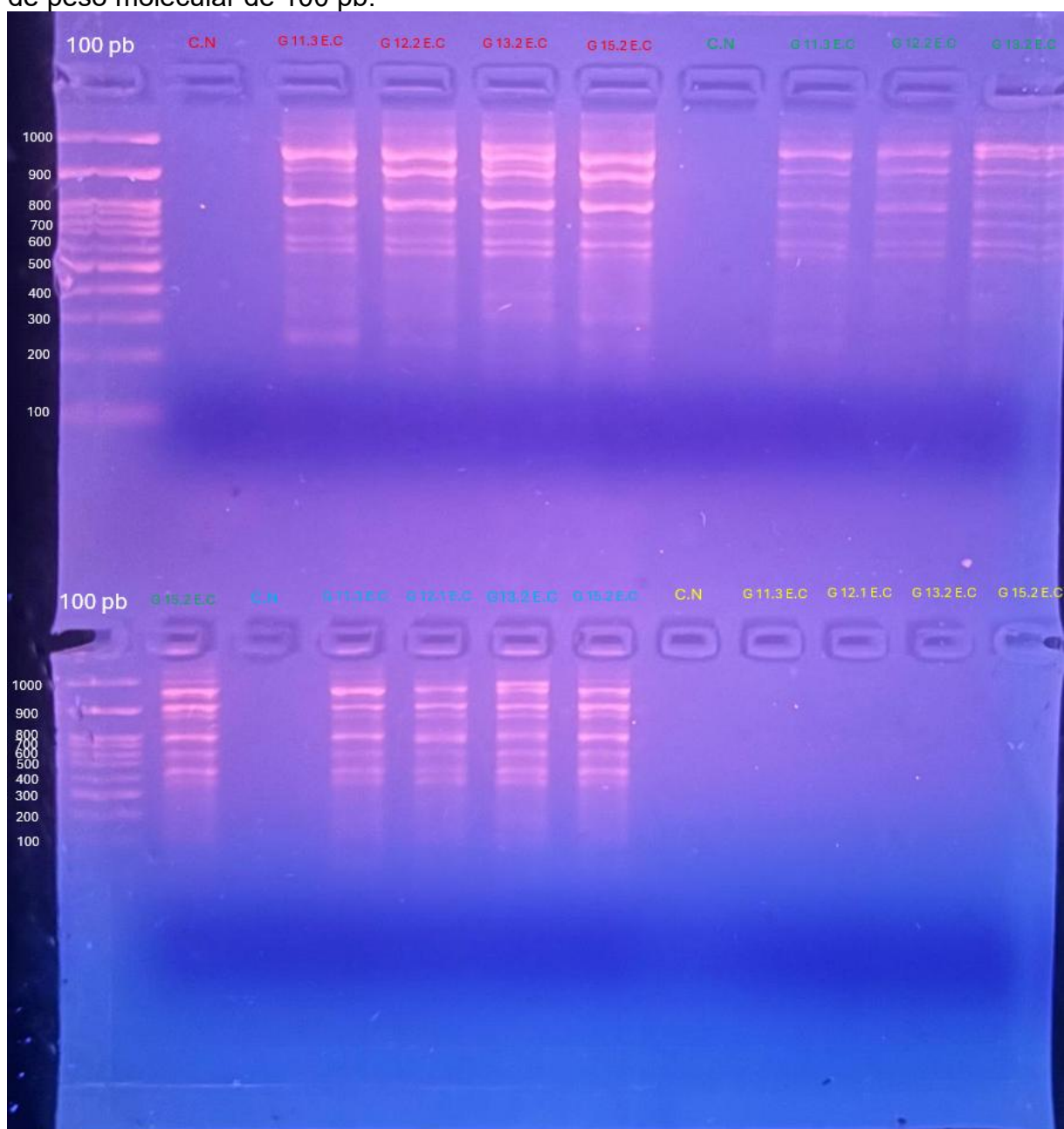
Apêndice 9 – Gel de agarose a 2% (p/v) para identificação do gene de resistência *clmA*, corados com brometo de etídio e visualizados sob luz ultravioleta com marcador de peso molecular de 100 pb.



Fonte: elaboração própria.

Legenda: as cores vermelho, verde, azul e amarelo são em relação as concentrações de reagentes que foram utilizadas; pb: pares de bases. Tamanho esperado do produto: 698 pb (Van *et al.*, 2008).

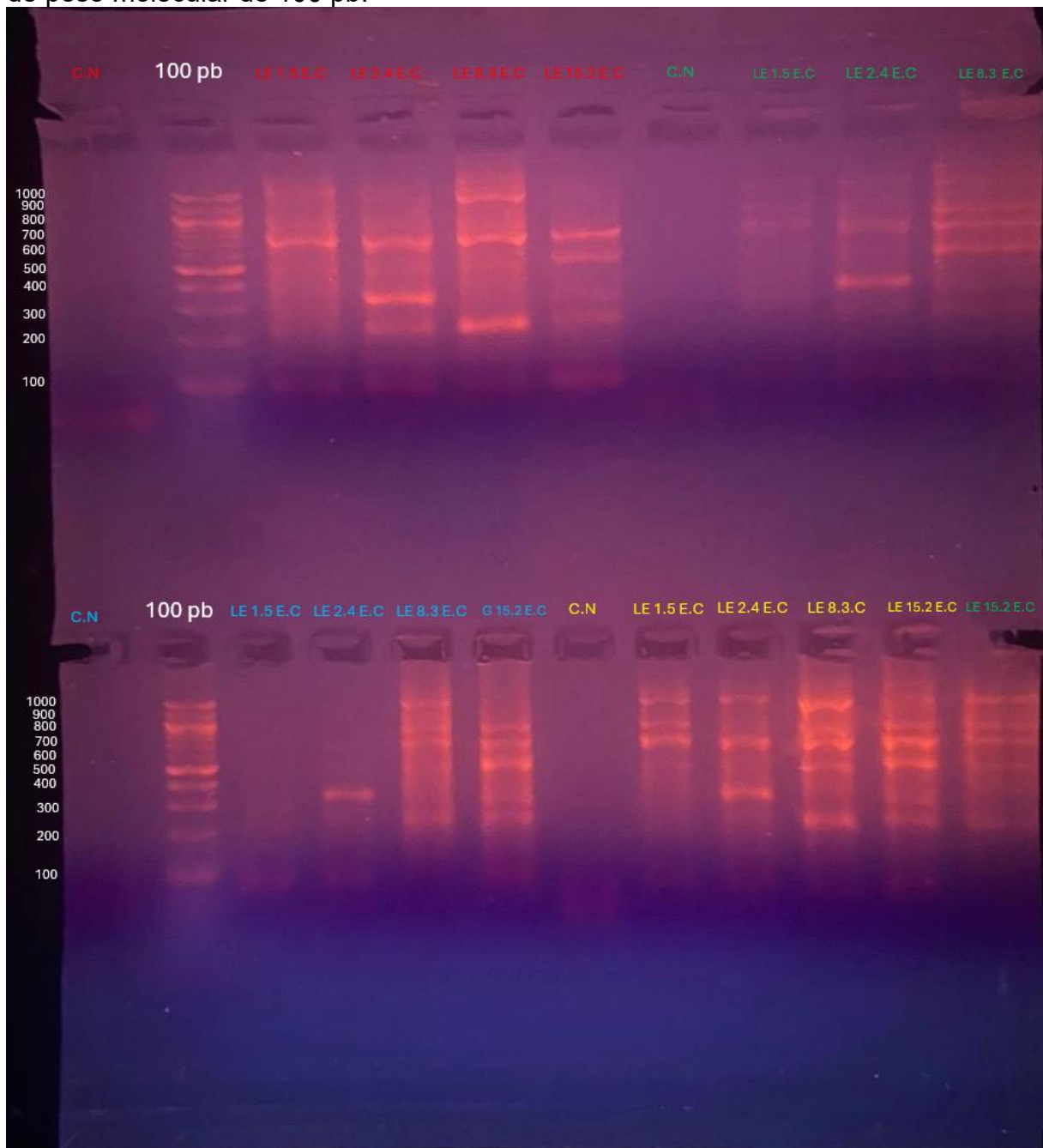
Apêndice 10 – Gel de agarose a 2% (p/v) para identificação do gene de resistência *sul1*, corados com brometo de etídio e visualizados sob luz ultravioleta com marcador de peso molecular de 100 pb.



Fonte: elaboração própria.

Legenda: as cores vermelho, verde, azul e amarelo são em relação as concentrações de reagentes que foram utilizadas; pb: pares de bases. Tamanho esperado do produto: 238 pb (Qiu *et al.*, 2019).

Apêndice 11 – Gel de agarose a 2% (p/v) para identificação do gene de resistência *sul2*, corados com brometo de etídio e visualizados sob luz ultravioleta com marcador de peso molecular de 100 pb.



Fonte: elaboração própria.

Legenda: as cores vermelho, verde, azul e amarelo são em relação as concentrações de reagentes que foram utilizadas; pb: pares de bases. Tamanho esperado do produto: 293 pb (Arabi *et al.*, 2015).

ANEXO

Anexo 1 – artigo publicado e quails do periódico.



Article

Antimicrobial Resistance Phenotypes and Genotypes of *Escherichia coli* Isolates from Artisanal Minas Frescal Cheeses from the Federal District, Brazil

Leticia Fernandes Silva Rodrigues ¹, Rodrigo Araújo de Melo ¹, Nathalia Mateus Borges ¹, Anna Cléa Silva Aragão ¹, Marta Oliveira de Araújo ¹, Rebeca Dias dos Santos ¹, Carla Azevedo Bilac ², Karolina Oliveira Gomes ¹, Bruno Alcântara do Prado ¹, Livia Cristina Lira de Sá Barreto ², Izabel Cristina Rodrigues da Silva ¹ and Daniela Castilho Orsi ^{1,*}

¹ Laboratory of Quality Control and Post-Graduate Program in Health Sciences and Technologies, University of Brasília, Brasília 72220-275, DF, Brazil; rodriguesleticias@gmail.com (L.F.S.R.); rodrigodemelo99@gmail.com (R.A.d.M.); nathaliamateus9@gmail.com (N.M.B.); annasilvaaragao@gmail.com (A.C.S.A.); oa.martaaraujo@gmail.com (M.O.d.A.); rebecadias123@gmail.com (R.D.d.S.); gomes.karolina@aluno.unb.br (K.O.G.); prado.bruno@aluno.unb.br (B.A.d.P.); belbiomedica@gmail.com (I.C.R.d.S.)

² Laboratory of Technologies and Post-Graduate Program in Health Sciences, University of Brasília, Brasília 72220-275, DF, Brazil; carlabilac@gmail.com (C.A.B.); liviabarreto@unb.br (L.C.L.d.S.B.)

* Correspondence: danielacastilhoorsi@gmail.com

Abstract

Background/Objectives: This study characterized the phenotypic and genotypic profiles of antimicrobial resistance in 104 *Escherichia coli* isolates obtained from 22 samples of artisanal Minas Frescal cheese from the Federal District, Brazil. **Methods:** The antimicrobial susceptibility of *E. coli* isolates was assessed using the disk diffusion method and antimicrobial resistance genes were detected using polymerase chain reaction methods with specific primers. **Results:** The highest rates of phenotypic antimicrobial resistance were observed for sulfonamides (85.58%, 89/104) and tetracyclines (38.46%, 40/104). In the genotypic profiles, most *E. coli* isolates carried the sulfonamide resistance genes *sul1/sul2* (62.50%, 65/104), tetracycline resistance genes *tetA/tetB* (65.38%, 68/104), and β -lactam resistance genes *blaCTX-M/blaTEM/blaSHV* (55.77%, 58/104). Most *E. coli* strains that presented sulfonamide resistance genes carried the *sul1* gene (49.04%, 51/104) and were phenotypically sulfonamide-resistant strains (59.61%, 62/104). Regarding the *E. coli* strains that carried tetracycline resistance genes, the majority harbored both *tetA* and *tetB* genes (34.61%, 36/104), with 35.56% (37/104) being phenotypically resistant and 29.80% (31/104) being phenotypically susceptible. For *E. coli* strains that presented β -lactam resistance genes, the most frequently detected gene was *blaCTX-M* (21.15%, 22/104) and, notably, most *E. coli* strains (43.26%, 45/104) were phenotypically susceptible. The *cat1* and *clmA* genes (associated with phenicol resistance) were detected in 22.12% of the *E. coli* isolates (23/104), with only two strains (1.92%) being phenotypically resistant to chloramphenicol. **Conclusion:** The high prevalence of *E. coli* carrying antimicrobial resistance genes in artisanal cheese raises public health concerns regarding the dissemination of potentially pathogenic antimicrobial-resistant microorganisms through the food chain.

Keywords: fresh cheese; dairy products; antibiotic resistance; antibiotic resistance genes; *Escherichia coli*



Academic Editor: Juhsee Ahn

Received: 26 June 2025

Revised: 30 September 2025

Accepted: 9 October 2025

Published: 2 November 2025

Citation: Rodrigues, L.F.S.; Melo, R.A.d.; Borges, N.M.; Aragão, A.C.S.; Araújo, M.O.d.; dos Santos, R.D.; Bilac, C.A.; Gomes, K.O.; do Prado, B.A.; Sá Barreto, L.C.L.d.; et al. Antimicrobial Resistance Phenotypes and Genotypes of *Escherichia coli* Isolates from Artisanal Minas Frescal Cheeses from the Federal District, Brazil. *Antibiotics* **2025**, *14*, 1101. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14111101>

Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Brazil is the largest milk producer in South America, the fourth largest in the world, and one of the top five globally, with an annual production exceeding 34 billion liters [1,2]. Minas Frescal cheese is a typical Brazilian product and ranks third in national cheese consumption, with high availability and low cost in the domestic market [3].

Minas Frescal cheese is characterized by a raw mass with a soft texture, white appearance, and a slightly acidic and salty flavor [4]. It is a fresh cheese, meaning it is not aged, with a high moisture content, medium fat content, and a pH close to neutrality. It is produced through enzymatic coagulation of cow's milk using rennet and/or other appropriate coagulating enzymes [5,6].

According to Brazilian regulations, the production of Minas Frescal cheese must use milk subjected to pasteurization or an equivalent thermal treatment to ensure the safety of the product. The commercialization of Minas Frescal cheese made with raw milk is not permitted, as the cheese does not undergo a maturation process. Due to its lack of maturation and high moisture content (above 55%), the cheese must be stored at the correct refrigeration temperature (not exceeding 8 °C) and has a short shelf life (approximately 15 days) [5].

In Brazil, Minas Frescal cheese is industrially produced in dairy factories using pasteurized milk and is sold in supermarkets in refrigerated shelves and in packaging containing the seal of the sanitary inspection service. However, the Brazilian market also includes artisanal Minas Frescal cheeses, which are typically produced on small rural properties and commonly sold at open-air markets and farmers' markets. These cheeses are often sold without branding on the packaging, without refrigeration, and are frequently made from raw milk and handled under inadequate hygienic conditions, making them susceptible to a high presence of pathogenic microorganisms, which compromises their quality and poses a food safety risk to consumers. The main pathogens isolated from these cheeses are *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., and *Listeria monocytogenes*, which frequently cause outbreaks of foodborne diseases worldwide [7–11].

Some studies have shown that artisanal cheeses produced in different regions of Brazil do not meet the microbiological criteria established by national laws, mainly due to high levels of *S. aureus* and *E. coli* [8,11,12]. *Escherichia coli* predominantly lives as a commensal bacterium in the intestinal microbiota of humans and homeothermic animals. However, pathogenic strains of *E. coli* can cause various diseases, with these bacteria being one of the main causes of gastrointestinal infections in humans, primarily transmitted through contaminated water and food. Consequently, these bacteria are abundant in feces and are regularly used as microbial indicators of the presence of enteropathogenic bacteria in water and food [7,10,13].

E. coli exhibits a high prevalence of antimicrobial resistance, both in commensal strains and in those that possess virulence factors. Therefore, it is essential to monitor the antimicrobial resistance profile of *E. coli* due to its widespread presence in the environment and among various hosts, as well as its ability to transfer resistance genes both inter- and intra-specifically. Consequently, *E. coli* is commonly used as a microorganism to monitor antimicrobial resistance, given its capacity to acquire resistance genes through horizontal transfer [14,15].

Thus, this study aimed to isolate *Escherichia coli* strains from artisanal Minas Frescal cheese samples collected at farmers' markets in the Federal District, Brazil. The *E. coli* strains were genetically confirmed through the detection of the *uidA* gene. Antimicrobial susceptibility was assessed using the disk diffusion method (Kirby–Bauer). Recent studies have emphasized the importance of determining the genotypic profiles of antimicrobial resistance in both phenotypically resistant and susceptible bacteria, as many carry silent

genes that are not expressed in the phenotypic profile but can be spread through horizontal gene transfer to other bacteria and become active in the new host [16–20]. Therefore, while many studies only determine the genotypic profile for *E. coli* strains that are phenotypically resistant to antimicrobials isolated from milk and cheeses [21–23], the present study investigated the presence of resistance genes in all *E. coli* strains (phenotypically resistant or susceptible to antimicrobials), including *sul1* and *sul2* (resistance to sulfonamides); *tetA* and *tetB* (resistance to tetracyclines); *blaCTX-M*, *blaTEM*, and *blaSHV* (resistance to β -lactams); and *cat1* and *clmA* (resistance to phenicols).

2. Results and Discussion

2.1. Isolation of *E. coli* from Cheese Samples and Determination of the Phenotypic Profile of Antimicrobial Resistance

The results of this study showed that all samples of artisanal Minas Frescal cheese contained thermotolerant coliforms and *E. coli*, and 31.8% of artisanal cheeses (7/22) exceeded the limit imposed by Brazilian legislation of 3.0 log MPN/g for thermotolerant coliforms [24]. Thermotolerant coliforms are a subgroup of total coliforms that ferment lactose at temperatures between 44.5 and 45.5 °C, with the main representative being the *E. coli* species, which is exclusively of fecal origin [8]. Food contaminated with *E. coli* is not strictly associated with foodborne diseases, as this bacterium can commensally inhabit the intestines of humans and various other animals. However, the presence of pathogenic *E. coli* serotypes in food can cause gastrointestinal illnesses in consumers [13,25].

A total of 104 *E. coli* strains were isolated from the 22 samples of artisanal Minas Frescal cheese, with genetic confirmation of the *uidA* and *lacZB* genes. The *uidA* gene is used for *E. coli* confirmation, as it is present in more than 95% of the strains of this bacterium but absent in other *Enterobacteriaceae* species, making it a specific gene for the detection of *E. coli* [26,27].

Ahmady et al. [28] isolated 76 suspected *E. coli* strains from raw cow milk and unpasteurized butter samples collected from dairy stores in Ahvaz, southwest Iran, detecting the *uidA* gene in 65.9% (50/76) of the strains, which were confirmed to be *E. coli*. Similarly, Alsanjary et al. [29] analyzed 400 bacteria collected from various dairy herds in Nineveh, Iraq, and observed that 35.0% (140/400) of the strains tested positive for *E. coli* through the identification of the *uidA* gene.

Table 1 presents the antimicrobial susceptibility profile of the 104 *E. coli* strains isolated from artisanal Minas Frescal cheese. The highest antimicrobial resistance rates were observed for sulfonamide (85.58%, 89/104) and tetracycline (38.46%, 40/104).

Table 1. Antimicrobial susceptibility profile of *Escherichia coli* isolates.

Antimicrobials	R % (n)	I % (n)	S % (n)
Amoxicillin* (AMC)	19.23 (20)	3.85 (4)	76.92 (80)
Cefotaxime (CTX)	13.46 (14)	6.73 (7)	79.81 (83)
Ceftazidime (CAZ)	10.58 (11)	5.77 (6)	83.65 (87)
Ciprofloxacin (CIP)	23.08 (24)	18.27 (19)	58.65 (61)
Chloramphenicol (CLO)	7.69 (8)	2.88 (3)	89.43 (93)
Gentamicin (GEN)	8.65 (9)	19.23 (20)	72.12 (75)
Imipenem (IMP)	2.88 (3)	3.85 (4)	93.27 (97)
Sulfonamide (SUL)	85.58 (89)	4.81 (5)	9.61 (10)
Tetracycline (TET)	38.46 (40)	2.88 (3)	58.65 (61)

* Amoxicillin and clavulanic acid; R: resistant; I: intermediate; S: susceptible; n = number of strains; % = percentage of the total of 104 strains.

In the literature, several studies have reported high antimicrobial resistance rates to sulfonamides and tetracyclines in *E. coli* isolated from raw milk and cheeses. Ribeiro

et al. [30] reported that 93.0% of potentially pathogenic *E. coli* strains isolated from raw milk samples in a small Brazilian farm producing fresh raw milk cheese were resistant to sulfamethoxazole/trimethoprim. Messele et al. [31] analyzed 224 raw milk samples collected from cows with mastitis at dairy farms in central Ethiopia and found an *E. coli* prevalence rate of 7.1% (16), with a phenotypic resistance rate of 50% to sulfamethoxazole/trimethoprim. Shoaib et al. [22] analyzed 209 samples collected from a large dairy farm in Xinjiang province, China, and found that most of the 338 *E. coli* strains were resistant to sulfamethoxazole/trimethoprim (62.43%, 211/338) and exhibited a tetracycline resistance rate of 28.99% (98/338). Hassanien and Shaker [32] found *E. coli* O157:H7 strains in 11.3% of dairy product samples, such as cheeses and yogurts, sold in Egypt, and these strains exhibited high resistance to tetracycline (81.8%). Joubrane et al. [33] analyzed 195 raw milk samples collected in Lebanon; among the 100 isolated *E. coli* strains, 41.0% showed resistance to tetracycline. De Campos et al. [7] reported that, out of a total of 147 samples of Minas Frescal cheese made from unpasteurized cow's milk in Brazil, 39 *E. coli* strains were isolated, with the highest antimicrobial resistance rate found for tetracycline (25.6%).

Antimicrobials such as tetracyclines and sulfonamides are widely used in the treatment of animal diseases. According to the USA's Food and Drug Administration, in 2021, the estimated proportion of antimicrobial drugs sold for use in food-producing animals, based on therapeutic class, was 67% for tetracyclines, representing the highest sales volume in the domestic market, with approximately 3916 kg of drugs sold. This was followed by penicillins at 10% (619 kg), macrolides at 9% (524 kg), and sulfonamides at 5% (302 kg) [34].

It was observed that among the 104 *E. coli* strains, only 13 (12.5%) were sensitive to all tested antimicrobials, while 91 (87.5%) exhibited resistance to at least one of the tested antimicrobials. A total of 33 *E. coli* strains (31.8%) were identified as resistant to three or more classes of antimicrobials and were therefore classified as multidrug-resistant (MDR) bacteria. A total of 31 antimicrobial resistance profiles were identified (Table 2), with resistance to SUL being the most frequent, being observed in 32.7% of *E. coli* strains (34/104), followed by resistance to SUL-TET in 7.7% (8/104) and SUL-TET-CIP in 5.8% (6/104).

Table 2. Phenotypic antimicrobial resistance patterns of *Escherichia coli* isolates.

Isolates	Antibiotics	n (%)
1	SUL	34 (32.7)
2	TET	2 (1.92)
3	SUL-AMC	1 (0.96)
4	SUL-CAZ	3 (2.88)
5	SUL-CIP	4 (3.86)
6	SUL-CLO	1 (0.96)
7	SUL-CTX	1 (0.96)
8	SUL-GEN	3 (2.88)
9	SUL-TET	8 (7.69)
10	SUL-IMP	1 (0.96)
11	SUL-CTX-CIP	1 (0.96)
12	SUL-TET-CIP	6 (5.76)
13	SUL-AMC-CIP	2 (1.92)
14	SUL-CTX-AMC	1 (0.96)
15	SUL-TET-AMC	2 (1.92)
16	SUL-GEN-CIP	1 (0.96)
17	SUL-CTX-TET-AMC	2 (1.92)
18	SUL-CLO-AMC-CIP	1 (0.96)
19	SUL-CTX-AMC-CAZ	3 (2.88)
20	SUL-CLO-TET-CIP	1 (0.96)
21	SUL-TET-AMC-CIP	2 (1.92)

Table 2. Cont.

Isolates	Antibiotics	n (%)
22	SUL-TET-GEN-CIP	1 (0.96)
23	SUL-CLO-TET-AMC	1 (0.96)
24	SUL-CTX-TET-AMC-CIP	1 (0.96)
25	SUL-CLO-CTX-TET-CIP	1 (0.96)
26	SUL-CLO-TET-IPM-CAZ	2 (1.92)
27	SUL-CTX-TET-GEN-CAZ	1 (0.96)
28	SUL-TET-GEN-AMC-CIP	1 (0.96)
29	SUL-CTX-TET-AMC-CIP-CAZ	1 (0.96)
30	SUL-CTX-TET-GEN-AMC-CIP	1 (0.96)
31	SUL-CLO-CTX-TET-GEN-AMC-CAZ	1 (0.96)
	Total	91 (87.5)

n = number of strains; % = percentage of the total of 104 strains. AMC, amoxicillin/clavulanic acid; CTX, Cefotaxime; CAZ, ceftazidime; CIP, ciprofloxacin; CLO, chloramphenicol; GEN, gentamicin; IMP, imipenem; SUL, sulfonamide; TET, tetracycline.

Several studies from different regions have reported a considerable prevalence of multidrug-resistant (MDR) *E. coli* in dairy products. In Egypt, Kasem et al. [35] observed that 82.4% of 17 *E. coli* isolates from commonly consumed cheese varieties were MDR. In Lebanon, Hussein et al. [36] found that 75.0% (89/118) of *E. coli* strains from 50 white soft cheese (Akkawi) samples collected from 16 major retail stores in Beirut exhibited multidrug resistance, particularly in unbranded products lacking proper pasteurization. In Ethiopia, Messele et al. [31] reported MDR in 68.7% of *E. coli* isolates obtained from raw milk sampled at central-region dairy farms, while Adzitey et al. [37] identified MDR in 40.5% (42/250) of *E. coli* strains recovered from raw cow milk and related products collected from different locations in the Saboba district of Ghana.

Multidrug-resistant *E. coli* has become a significant concern in human and veterinary medicine. Dairy cattle may serve as reservoirs for zoonotic and antibiotic-resistant strains, facilitating their spread through contaminated farm environments, milk, meat, or direct contact with animals [14,22].

2.2. Determination of the Genotypic Profile of Antimicrobial Resistance of *E. coli* Isolates

In the present study, 65 *E. coli* strains (62.50%) out of the 104 analyzed carried sulfonamide resistance genes (Table 3). Most of the isolated *E. coli* strains harbored the *sul1* gene (57.69%, 60/104), with a large proportion of them carrying this gene alone (49.04%, 51/104). In total, 14 *E. coli* strains (13.46%) carried the *sul2* gene, of which only 5 *E. coli* strains (4.81%) carried *sul2* alone. Accordingly, nine *E. coli* strains (8.65%) harbored both *sul1* and *sul2* genes simultaneously. In the antibiogram analysis, most *E. coli* strains were resistant to sulfonamide (85.58%, 89/104), and in the genotypic profile, 62 (59.61%) of these phenotypically sulfonamide-resistant *E. coli* strains carried the *sul1* and/or *sul2* genes. This result indicates that 69.66% of phenotypically sulfonamide-resistant *E. coli* strains carried the *sul1* and/or *sul2* genes. Furthermore, a small proportion of *E. coli* strains (2.88%, 3/104) were phenotypically susceptible to sulfonamide but still harbored the *sul1* and/or *sul2* genes.

Sulfonamides exhibit a broad spectrum of activity against most Gram-positive and Gram-negative bacteria, acting through the competitive inhibition of the enzyme dihydropteroate synthase (DHPS), which is essential for folic acid synthesis in bacteria. Folic acid is crucial for the construction of bacterial DNA and RNA; therefore, inhibiting its synthesis prevents bacterial growth and replication. Sulfonamides have been used for decades in animals and humans and sulfonamide resistance mechanisms have been frequently identified in Gram-negative bacteria, mainly due to the acquisition of three resistance genes

(*sul1*, *sul2*, and *sul3*), which encode DHPS isoforms with low affinity for sulfonamides. These resistance genes have been identified in both bacterial chromosomes and plasmids, often associated with mobile genetic elements such as transposons and integrons. This genetic mobility facilitates the transfer of *sul* genes, contributing to the spread of resistance among different bacterial populations [38–40].

Table 3. Percentage occurrence of various antibiotic resistance genes in 104 *Escherichia coli* isolates.

Antimicrobial Resistance Genes	Total of <i>E. coli</i> Strains n (%)	Phenotypically Resistant <i>E. coli</i> n (%)	Phenotypically Susceptible <i>E. coli</i> n (%)
<i>Sul</i> genes			
<i>sul1</i>	51 (49.04)	48 (45.15)	3 (2.88)
<i>sul2</i>	5 (4.81)	5 (4.81)	0
<i>sul1</i> + <i>sul2</i>	9 (8.65)	9 (8.65)	0
Total <i>sul</i> genes	65 (62.50)	62 (59.61)	3 (2.88)
<i>Tet</i> genes			
<i>tetA</i>	22 (21.15)	11 (10.57)	11 (10.57)
<i>tetB</i>	10 (9.61)	3 (2.88)	7 (6.73)
<i>tetA</i> + <i>tetB</i>	36 (34.61)	23 (22.12)	13 (12.50)
Total <i>tet</i> genes	68 (65.38)	37 (35.56)	31 (29.80)
<i>Bla</i> genes			
<i>bla_{ctx-M}</i>	22 (21.15)	1 (0.96)	20 (20.19)
<i>bla_{TEM}</i>	9 (8.65)	3 (2.88)	6 (5.77)
<i>bla_{SHV}</i>	10 (9.61)	3 (2.88)	7 (6.73)
<i>bla_{ctx-M}</i> + <i>bla_{TEM}</i>	14 (13.46)	8 (7.69)	6 (5.77)
<i>bla_{ctx-M}</i> + <i>bla_{SHV}</i>	3 (2.88)	1 (0.96)	2 (1.92)
<i>bla_{SHV}</i> + <i>bla_{TEM}</i>	3 (2.88)	1 (0.96)	2 (1.92)
<i>bla_{ctx-M}</i> + <i>bla_{TEM}</i> + <i>bla_{SHV}</i>	5 (4.80)	3 (2.88)	2 (1.92)
Total <i>bla</i> genes	58 (55.77)	20 (19.23)	45 (43.26)
<i>Cat1</i> and <i>clmA</i> genes			
<i>cat1</i>	4 (3.85)	1 (0.96)	3 (2.88)
<i>clmA</i>	18 (17.31)	1 (0.96)	17 (16.35)
<i>cat1</i> + <i>clmA</i>	1 (0.96)	0	1 (0.96)
Total <i>cat1</i> and <i>clmA</i>	23 (22.12)	2 (1.92)	21 (20.19)

n = number of strains; % = percentage of the total of 104 strains.

The *sul1* and *sul2* genes are frequently detected in *E. coli*, while the *sul3* gene is much less common. The *sul1* gene is highly prevalent due to its location within the 3-conserved segment of class 1 integrons. Consequently, it is frequently co-located with other antimicrobial resistance genes carried on gene cassettes in the variable region of these integrons. Class 1 integrons containing *sul1* have been detected in *E. coli* from both healthy and diseased food-producing animals worldwide. The *sul2* gene is also widely distributed among *E. coli* isolates from different animal species across various regions of the world [38,39].

Ombarak et al. [21] evaluated 25 *E. coli* isolates phenotypically resistant to sulfonamides from samples of raw milk and the two most popular cheeses in Egypt and found that 25 strains (100%) carried the *sul2* gene, 7 strains (28%) carried *sul1*, and 3 strains (12%) carried *sul3*. Shoaib et al. [22] isolated 211 *E. coli* strains resistant to trimethoprim/sulfamethoxazole from a dairy farm environment in Xinjiang, China, and observed that 142 strains (67.3%) carried *sul2*, 59 strains (27.9%) carried *sul1*, and 38 strains (18.1%) carried *sul3*. Kuzeubayeva et al. [41] analyzed 207 samples of three types of cheese pro-

duced in Kazakhstan and observed that 31.4% of the cheese samples were contaminated with *E. coli*. The samples of soft cheese produced by small farms (80% of the samples) and packaged at the retail site (100%) showed the highest level of contamination. A total of 65 *E. coli* strains were isolated, of which 20 strains (30.8%) carried the *sulI* gene.

It was observed that 68 *E. coli* strains (65.38%) out of the 104 isolates carried tetracycline resistance genes (Table 3). Among these, 58 *E. coli* strains (85.29%) harbored the *tetA* gene, with 22 *E. coli* strains (21.15%) carrying only this gene. Additionally, 46 *E. coli* strains (67.64%) carried the *tetB* gene, with only 10 *E. coli* strains (9.61%) carrying this gene exclusively. Finally, 36 *E. coli* strains (34.61%) simultaneously harbored both *tetA* and *tetB* genes. Regarding the phenotypic profile, 40 *E. coli* strains (38.46%) exhibited tetracycline resistance, while in the genotypic profile, 37 of the resistant *E. coli* strains (35.56%) carried the *tetA* and/or *tetB* genes. Therefore, 92.5% of *E. coli* strains resistant to tetracycline in the antibiogram carried the *tetA* and/or *tetB* genes. Additionally, among the 104 *E. coli* strains analyzed, 31 (29.80%) were susceptible to tetracycline in the antibiogram, but still carried the *tetA* and/or *tetB* genes.

Tetracycline resistance is widespread in *E. coli* from livestock, mainly mediated by efflux pumps encoded by *tet* genes. Among these, *tetA* and *tetB* are the most common, often carried on plasmids associated with mobile genetic elements such as transposons and integrons [42–45].

Several studies in the literature have reported the presence of *tetA* and *tetB* genes in *E. coli* isolated from raw milk and cheeses. Ombarak et al. [21] evaluated 61 *E. coli* isolates from 187 samples of raw milk and the two most popular cheeses in Egypt, all phenotypically resistant to tetracycline, and found that 53 strains (86.9%) carried the *tetA* gene, 9 (14.8%) carried *tetB*, 1 (1.63%) carried *tetD*, and none carried *tetC*. Shoaib et al. [22] analyzed 98 *E. coli* strains isolated from a large dairy farm in Xinjiang province, China, all phenotypically resistant to tetracycline, and found a higher presence of the *tetB* gene in 69 *E. coli* strains (70.4%), followed by *tetA* in 11 *E. coli* strains (11.2%), and no presence of the *tetD* gene. Belaynehe et al. [23] reported that 88 *E. coli* isolates (95.7%) from cattle farms, out of a total of 92 tetracycline-resistant isolates, carried tetracycline resistance genes. Among them, 47 *E. coli* isolates (51.1%) harbored the *tetA* gene, while 41 (44.6%) harbored *tetB*. Messele et al. [31] analyzed 16 *E. coli* strains isolated from raw milk samples from cows with mastitis at dairy farms in central Ethiopia and found that eight isolates (50.0%) carried the *tetA* gene. Tabaran et al. [46] isolated 27 enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) and verotoxigenic *E. coli* (VTEC) strains from 120 raw milk samples and 80 unpasteurized cheese samples sold in Romania. Among these, 48.1% of *E. coli* strains (13/27) tested positive for tetracycline resistance genes. The *tetA* and *tetB* genes were identified in 38.5% of *E. coli* strains (5/13), *tetC* was identified in 30.8% (4/13), and 23.1% of *E. coli* strains (3/13) were positive for *tetA*, *tetB*, and *tetC*.

A notable finding in this study was the presence of β -lactam antimicrobial resistance genes (*bla*CTX-M, *bla*TEM, and *bla*SHV) in 58 *E. coli* strains (55.77%) (Table 3). However, lower resistance rates were observed in the phenotypic profile for the tested β -lactam antimicrobials: 19.23% (20/104) for amoxicillin/clavulanic acid, 13.46% (14/104) for cefotaxime, and 10.58% (11/104) for ceftazidime. Thus, most *E. coli* strains (43.26%, 45/104) that carried β -lactam resistance genes were susceptible in the antibiogram. Meanwhile, 20 *E. coli* strains (19.23%) were resistant in the antibiogram to amoxicillin/clavulanic acid and/or cefotaxime and/or ceftazidime and carried β -lactam antimicrobial resistance genes.

The most frequently detected β -lactam antimicrobial resistance gene in *E. coli* strains was *bla*CTX-M (21.15%, 22/104). Additionally, 14 *E. coli* strains (13.46%) simultaneously carried the *bla*CTX-M and *bla*TEM genes, while 10 (9.61%) harbored only the *bla*SHV gene. The *bla*TEM gene was found in nine strains (8.65%), whereas five (4.81%) carried all three

genes (*bla*CTX-M, *bla*TEM, and *bla*SHV). Finally, three strains (2.88%) presented a combination of *bla*CTX-M and *bla*SHV genes, and another three (2.88%) carried a combination of *bla*SHV and *bla*TEM genes.

Gram-negative bacteria, especially species such as *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* from the Enterobacteriaceae family, which produce extended-spectrum β -lactamases (ESBLs), are among the main causes of resistance to β -lactam antimicrobials. ESBL-producing bacteria are resistant to penicillin and its derivatives, as well as first-, second-, and third-generation cephalosporins and monobactams. This resistance is mainly due to the production of CTX-M, TEM, and SHV β -lactamases, which are encoded by the *bla*-CTX-M, *bla*-SHV, and *bla*-TEM genes, respectively. The genes encoding ESBLs are frequently located on plasmids and housed within transposons, facilitating their spread among human and animal hosts. This phenomenon is a significant concern as it compromises the effectiveness of commonly used antimicrobials in the treatment of bacterial infections [47–49].

Several studies in the literature have reported a high prevalence of β -lactam antibiotic resistance genes in *E. coli* strains isolated from milk and dairy products. Shoaib et al. [22] isolated 263 *E. coli* strains resistant to cefotaxime from a dairy farm environment in Xinjiang, China, and observed that 148 strains (56.3%) carried the *bla*TEM gene, 68 (25.8%) carried *bla*OXA, and 59 (22.4%) carried *bla*CTX-M. Eldesoukey et al. [50] examined a total of 240 samples (75 from diarrheic calves, 150 from milk samples, and 15 from workers) for the prevalence of EPEC in three dairy farms in Egypt, and 28 EPEC isolates were detected. Among these 28 EPEC isolates, 5 strains (17.90%) carried the *bla*SHV gene, 3 (10.70%) carried both the *bla*TEM and *bla*CTX-M genes, 2 strains (7.10%) carried *bla*TEM, and 1 strain (3.60%) carried *bla*CTX-M, totaling 11 EPEC strains (39.30%) with the presence of the studied genes.

Ombarak et al. [21] reported that among 42 *E. coli* isolates resistant to ampicillin, obtained from 187 samples of raw milk and the two most popular cheeses in Egypt, 40 isolates (94.23%) carried the *bla*TEM gene, 9 (21.42%) carried *bla*CTX-M, and 3 (7.14%) carried *bla*SHV. In the same study, 10 *E. coli* isolates resistant to ampicillin were identified as ESBL producers, of which 9 (90.00%) carried the *bla*CTX-M gene, 8 (80.00%) carried *bla*TEM, and 1 (10.00%) carried *bla*SHV. Among these, five ESBL-producing isolates (50.00%) carried both the *bla*CTX-M and *bla*TEM genes. Tabaran et al. [46] reported that, out of 27 pathogenic *E. coli* strains isolated from 120 raw milk samples and 80 unpasteurized cheese samples sold in Romania, 33.3% (n = 9) carried the beta-lactamase gene *bla*TEM and none of the samples tested positive for *bla*SHV.

In this study, the *cat1* and *clmA* genes (associated with resistance to phenicols) were detected in 23 *E. coli* isolates (22.12%), with only 2 strains (1.92%) being phenotypically resistant to chloramphenicol. Most of the strains (20.19%, 21/104) were phenotypically sensitive to chloramphenicol yet still carried resistance genes to phenicols (Table 3). It was observed that most of the *E. coli* strains carried the *clmA* gene (10/104, 17.31%), while 4 *E. coli* (3.85%) carried *cat1*, and 1 (0.96%) carried both *cat1* and *clmA*.

Phenicols are broad-spectrum antimicrobials commonly used in veterinary practice. Due to the severe toxicity of chloramphenicol, which can lead to life-threatening blood disorders such as irreversible aplastic anemia, hypoplastic anemia, thrombocytopenia, and granulocytopenia, its use in food-producing animals was prohibited in the European Union in 1994 and in Brazil in 2003. However, the fluorinated derivative florfenicol remains approved for treating bacterial infections in livestock [14,51].

A total of 60 genotypic antimicrobial resistance patterns of *E. coli* isolates were identified (Table 4), representing 80.77% of the isolated *E. coli* strains (84/104). The most frequent genotypic antimicrobial resistance patterns were *bla*CTX-M–*sul1*–*tetA*–*tetB*–*bla*TEM, observed in 4.81% of the strains (5/104), and *sul1*–*tetA*–*tetB*, observed in 3.85% of the strains (4/104).

Table 4. Genotypic antimicrobial resistance patterns of *Escherichia coli* isolates.

Isolates	Genes	n	%
1	<i>clmA</i> – <i>bla</i> _{CTX-M} – <i>sul1</i> – <i>tetA</i> – <i>tetB</i> – <i>bla</i> _{TEM} – <i>bla</i> _{SHV}	1	0.96%
2	<i>bla</i> _{CTX-M} – <i>sul1</i> – <i>tetA</i> – <i>tetB</i> – <i>bla</i> _{TEM} – <i>bla</i> _{SHV}	2	1.92%
3	<i>bla</i> _{CTX-M} – <i>sul1</i> – <i>sul2</i> – <i>tetA</i> – <i>tetB</i> – <i>bla</i> _{SHV}	1	0.96%
4	<i>bla</i> _{CTX-M} – <i>sul1</i> – <i>sul2</i> – <i>tetA</i> – <i>tetB</i> – <i>bla</i> _{TEM}	2	1.92%
5	<i>clmA</i> – <i>bla</i> _{CTX-M} – <i>sul1</i> – <i>tetA</i> – <i>tetB</i> – <i>bla</i> _{SHV}	1	0.96%
6	<i>bla</i> _{CTX-M} – <i>sul1</i> – <i>sul2</i> – <i>tetA</i> – <i>bla</i> _{SHV}	1	0.96%
7	<i>bla</i> _{CTX-M} – <i>sul1</i> – <i>sul2</i> – <i>tetA</i> – <i>tetB</i>	1	0.96%
8	<i>bla</i> _{CTX-M} – <i>sul1</i> – <i>tetA</i> – <i>bla</i> _{TEM} – <i>bla</i> _{SHV}	1	0.96%
9	<i>bla</i> _{CTX-M} – <i>sul1</i> – <i>tetA</i> – <i>tetB</i> – <i>bla</i> _{SHV}	1	0.96%
10	<i>bla</i> _{CTX-M} – <i>sul1</i> – <i>tetA</i> – <i>tetB</i> – <i>bla</i> _{TEM}	5	4.81%
11	<i>bla</i> _{CTX-M} – <i>sul1</i> – <i>tetB</i> – <i>bla</i> _{TEM} – <i>bla</i> _{SHV}	1	0.96%
12	<i>cat1</i> – <i>bla</i> _{CTX-M} – <i>sul1</i> – <i>tetB</i> – <i>bla</i> _{TEM}	1	0.96%
13	<i>cat1</i> – <i>clmA</i> – <i>sul1</i> – <i>tetB</i> – <i>bla</i> _{TEM}	1	0.96%
14	<i>clmA</i> – <i>bla</i> _{CTX-M} – <i>sul1</i> – <i>tetA</i> – <i>tetB</i>	1	0.96%
15	<i>clmA</i> – <i>bla</i> _{CTX-M} – <i>sul1</i> – <i>sul2</i> – <i>tetB</i>	1	0.96%
16	<i>clmA</i> – <i>bla</i> _{CTX-M} – <i>tetA</i> – <i>tetB</i> – <i>bla</i> _{TEM}	1	0.96%
17	<i>sul1</i> – <i>sul2</i> – <i>tetA</i> – <i>tetB</i> – <i>bla</i> _{SHV}	1	0.96%
18	<i>sul1</i> – <i>sul2</i> – <i>tetA</i> – <i>bla</i> _{TEM} – <i>bla</i> _{SHV}	1	0.96%
19	<i>sul1</i> – <i>sul2</i> – <i>tetA</i> – <i>tetB</i> – <i>bla</i> _{SHV}	1	0.96%
20	<i>sul1</i> – <i>tetA</i> – <i>tetB</i> – <i>bla</i> _{TEM} – <i>bla</i> _{SHV}	1	0.96%
21	<i>bla</i> _{CTX-M} – <i>sul1</i> – <i>tetA</i> – <i>bla</i> _{TEM}	1	0.96%
22	<i>bla</i> _{CTX-M} – <i>sul2</i> – <i>tetA</i> – <i>tetB</i>	1	0.96%
23	<i>bla</i> _{CTX-M} – <i>tetA</i> – <i>tetB</i> – <i>bla</i> _{TEM}	1	0.96%
24	<i>bla</i> _{CTX-M} – <i>sul1</i> – <i>tetB</i> – <i>bla</i> _{TEM}	1	0.96%
25	<i>bla</i> _{CTX-M} – <i>sul1</i> – <i>tetA</i> – <i>tetB</i>	2	1.92%
26	<i>cat1</i> – <i>bla</i> _{CTX-M} – <i>sul1</i> – <i>tetA</i>	1	0.96%
27	<i>clmA</i> – <i>bla</i> _{CTX-M} – <i>sul2</i> – <i>bla</i> _{TEM}	1	0.96%
28	<i>clmA</i> – <i>bla</i> _{CTX-M} – <i>tetA</i> – <i>tetB</i>	1	0.96%
29	<i>clmA</i> – <i>bla</i> _{CTX-M} – <i>tetB</i> – <i>bla</i> _{TEM}	1	0.96%
30	<i>clmA</i> – <i>sul1</i> – <i>tetA</i> – <i>bla</i> _{SHV}	1	0.96%
31	<i>clmA</i> – <i>sul1</i> – <i>tetA</i> – <i>tetB</i>	1	0.96%
32	<i>clmA</i> – <i>tetA</i> – <i>tetB</i> – <i>bla</i> _{SHV}	1	0.96%
33	<i>sul1</i> – <i>tetA</i> – <i>bla</i> _{TEM} – <i>bla</i> _{SHV}	1	0.96%
34	<i>sul1</i> – <i>tetA</i> – <i>tetB</i> – <i>bla</i> _{SHV}	2	1.92%
35	<i>sul1</i> – <i>tetA</i> – <i>tetB</i> – <i>bla</i> _{TEM}	3	2.88%
36	<i>bla</i> _{CTX-M} – <i>sul1</i> – <i>sul2</i>	1	0.96%
37	<i>bla</i> _{CTX-M} – <i>sul1</i> – <i>tetA</i>	3	2.88%
38	<i>bla</i> _{CTX-M} – <i>tetA</i> – <i>bla</i> _{TEM}	1	0.96%
39	<i>bla</i> _{CTX-M} – <i>sul1</i> – <i>tetB</i>	1	0.96%
40	<i>bla</i> _{CTX-M} – <i>tetA</i> – <i>tetB</i>	2	1.92%

Table 4. Cont.

Isolates	Genes	n	%
41	<i>cat1</i> – <i>bla</i> _{CTX-M} – <i>tetA</i>	1	0.96%
42	<i>cat1</i> – <i>sul1</i> – <i>bla</i> _{TEM}	1	0.96%
43	<i>clmA</i> – <i>sul1</i> – <i>bla</i> _{TEM}	1	0.96%
44	<i>clmA</i> – <i>sul1</i> – <i>tetA</i>	1	0.96%
45	<i>clmA</i> – <i>tetA</i> – <i>bla</i> _{TEM}	1	0.96%
46	<i>sul1</i> – <i>tetA</i> – <i>tetB</i>	4	3.85%
47	<i>sul1</i> – <i>tetB</i> – <i>bla</i> _{SHV}	1	0.96%
48	<i>sul1</i> – <i>tetB</i> – <i>bla</i> _{TEM}	1	0.96%
49	<i>bla</i> _{CTX-M} – <i>bla</i> _{SHV}	1	0.96%
50	<i>bla</i> _{CTX-M} – <i>sul2</i>	1	0.96%
51	<i>bla</i> _{CTX-M} – <i>bla</i> _{TEM}	1	0.96%
52	<i>bla</i> _{CTX-M} – <i>tetB</i>	1	0.96%
53	<i>bla</i> _{CTX-M} – <i>tetA</i>	1	0.96%
54	<i>clmA</i> – <i>bla</i> _{CTX-M}	3	2.88%
55	<i>clmA</i> – <i>sul2</i>	1	0.96%
56	<i>sul1</i> – <i>bla</i> _{SHV}	3	2.88%
57	<i>sul1</i> – <i>bla</i> _{TEM}	2	1.92%
58	<i>sul1</i> – <i>tetA</i>	3	2.88%
59	<i>sul2</i> – <i>tetA</i>	1	0.96%
60	<i>tetA</i>	2	1.92%
Total		84	80.77%

In the present study, seven *E. coli* strains were found to exhibit a resistant phenotype without carrying any of the resistance genes investigated. These strains likely harbor other antimicrobial resistance genes not included in the current analysis. On the other hand, several *E. coli* isolates did not show resistance in the antibiogram but expressed resistance genes in PCR. Recent studies have been published referring to these genes as ‘silent genes’ [16–20].

Silent genes are DNA sequences that are usually inactive or expressed at very low levels but can be activated by mutations, recombination, or transfer to a new host [16]. Some genes may appear silent in the laboratory yet are expressed in natural environments. Like other genes, silent genes can spread via horizontal gene transfer. Studying the full resistome, including silent genes, is crucial for understanding antibiotic resistance, as both resistant and phenotypically susceptible strains should be considered [16–20].

Figures 1–3 present the analyses of phenotypic and genotypic resistance categories across markets and, consequently, cheese samples. The associations between markets and phenotypic (Figure 1) and genotypic (Figure 2) resistance categories were weak, with small effect sizes and non-significant chi-square values ($p = 0.43$ and $p = 0.32$, respectively), indicating that resistance profiles were broadly distributed among the markets and their corresponding cheese samples, without apparent geographical differences in antimicrobial resistance patterns. The distribution of antimicrobial resistance genes across cheese samples (Figure 3) also showed limited evidence of dependence ($p = 0.98$), suggesting that resistance genes were not clustered in specific markets or cheese samples. Overall,

these results indicate that phenotypic and genotypic resistance traits are dispersed across the sampled markets, and there is no significant concentration of resistance patterns in particular locations or products.

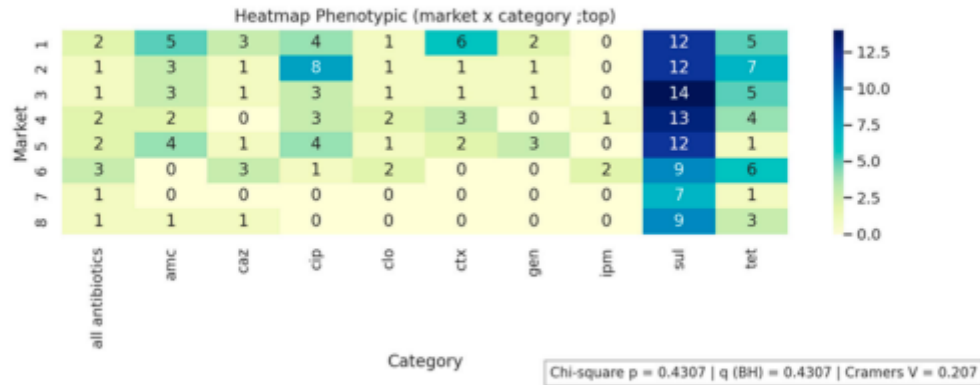


Figure 1. Phenotypic resistance distribution across markets.

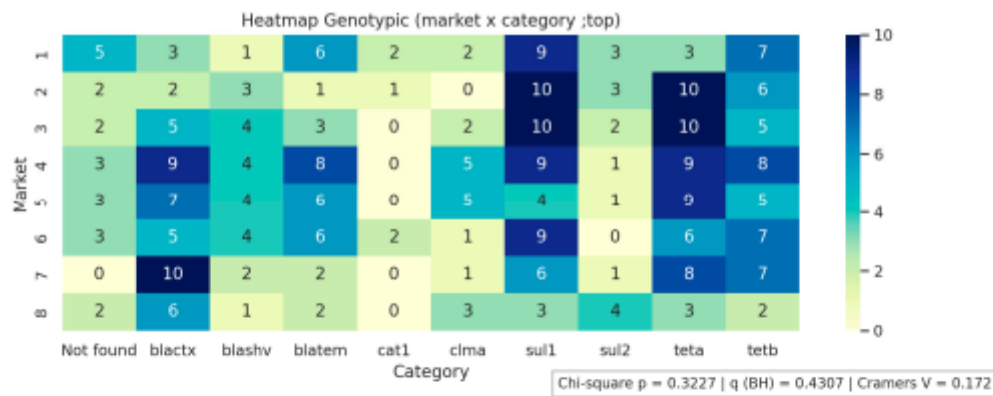


Figure 2. Genotypic resistance distribution across markets. Not found indicates that none of the investigated genes were detected.

All antibiotics indicates susceptibility to all tested antibiotics. AMC, amoxicillin/clavulanic acid; CAZ, ceftazidime; CIP, ciprofloxacin; CLO, chloramphenicol; CTX, Cefotaxime; GEN, gentamicin; IMP, imipenem; SUL, sulfonamide; TET, tetracycline

Minas frescal cheese has intrinsic factors, such as high moisture, neutral pH, and nutrient richness, which favor bacterial growth. This, combined with the use of raw milk in its production, results in a high level of contamination with potentially pathogenic bacteria, including *E. coli*. The situation is further aggravated by the presence of both genotypic and phenotypic antimicrobial resistance in these bacteria. Therefore, it is essential to implement educational programs for small-scale artisanal cheese producers, emphasizing the prohibition of using raw milk in the production of fresh cheeses, and strengthening market surveillance of these products. Such measures are fundamental to improving food safety and protecting consumers from potential health risks associated with the consumption of these cheeses [7,8,10–12].

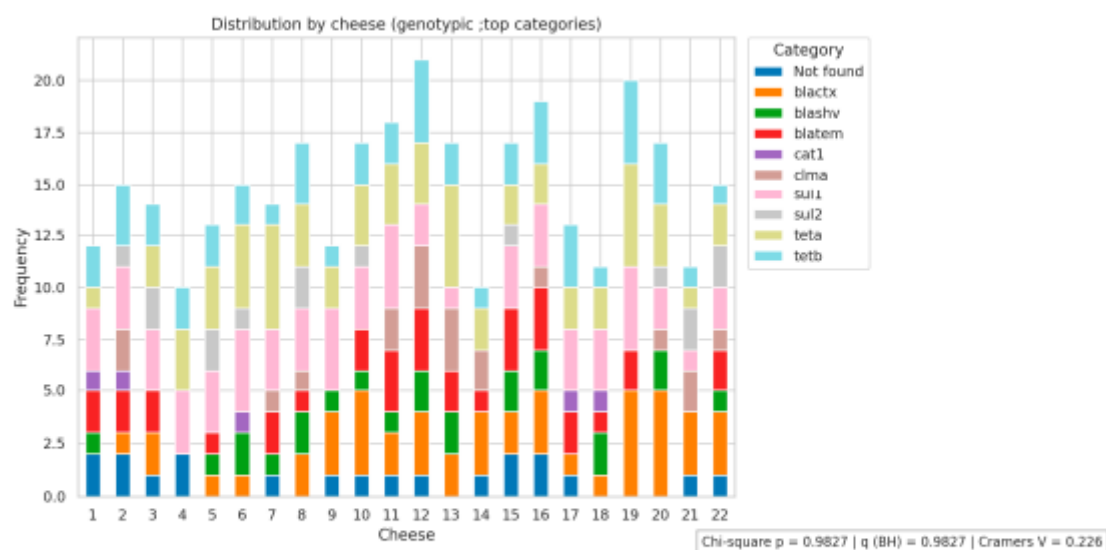


Figure 3. Antimicrobial resistance genes distribution across cheese samples. Not found indicates that none of the investigated genes were detected.

3. Material and Methods

3.1. Sample Collection

A total of 22 samples of artisanal Minas Frescal cheese were collected from 8 different farmers' markets in the Federal District, Brazil, between February 2022 and March 2024, with 2 to 3 samples from different vendors collected at each market. The samples were immediately transported to the laboratory in a thermal box containing ice, and microbiological analyses began a maximum of one hour after collection. All samples were analyzed in triplicate, meaning three aliquots were taken from each package, and the results were expressed as means and standard deviations.

3.2. Enumeration of Thermotolerant Coliforms and Isolation of *E. coli*

Enumeration of thermotolerant coliforms and isolation of *E. coli* were performed according to the methods described by Feng et al. [52]. For the analysis, 25 g of each sample was weighed and diluted in 225 mL of 0.1% peptone water (*w/v*). The material was homogenized, resulting in the first dilution (10^{-1}). Subsequent decimal dilutions (up to 10^{-3}) were prepared from this initial dilution. The determination of the Most Probable Number (MPN) of thermotolerant coliforms was conducted using the multiple-tube fermentation technique, starting with the presumptive test. This involved inoculating each sample dilution into Lauryl Sulfate Tryptose Broth (HiMedia, Thane, India). The tubes were incubated at 37 °C for 24 h. A positive result was indicated by turbidity in the broth accompanied by gas production in the Durham tubes. Aliquots from the positive tubes in the presumptive test were inoculated into tubes containing *Escherichia coli* broth (EC broth, Kasvi, Madrid, Spain) to confirm the presence of thermotolerant coliforms. The tubes were incubated in a water bath at 45 °C for 24 h. Again, a positive result was indicated by turbidity accompanied by gas production. The results were expressed as log MPN/g. For the isolation of *E. coli*, aliquots of the EC broth were streaked onto MacConkey Agar (HiMedia, Thane, India), and the plates were incubated at 37 °C for 24 h. Subsequently, 6 strains suspected of being *E. coli* (strongly lactose-fermenting colonies) were isolated from each sample, each presenting distinct antibiograms, totaling 132 suspected strains. These

strains were subjected to molecular identification using the polymerase chain reaction (PCR) technique to confirm the presence of *E. coli*. After genetic identification, 104 strains were confirmed as *E. coli*. The *uidA* gene was not amplified in 28 strains; therefore, these strains were discontinued.

3.3. Bacterial DNA Extraction

The isolated bacterial colonies were cultured in Mueller–Hinton broth (Kasvi Madrid, Spain) for 18–24 h. Then, DNA extraction was performed using the Purelink Genomic DNA Mini Kit Invitrogen™ (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), following the manufacturer’s protocol for Gram-negative bacteria. The quality of the extracted DNA was assessed via electrophoresis on a 2% (*w/v*) agarose gel, and the DNA concentration was quantified using the NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, Pittsburgh, PA, USA). The DNA products were diluted with Milli-Q water to an average concentration of 20 ng/μL.

3.4. Identification of *E. coli*

For the identification of *E. coli*, the *uidA* gene, which encodes the enzyme β-glucuronidase, and the *lacZB* gene, which encodes the enzyme β-galactosidase, were used as characteristic markers of the species [27]. The primers sequences are detailed in Table 5.

Table 5. Primers sequences and amplified product sizes for the identification of *Escherichia coli*.

Gene	Primer Sequence (5′ → 3′)	Product Size (bp)	Reference
<i>lacZB</i>	F: ATGAAAGCTGGCTACAGGAAGGCC	876	Molina et al. [27]
	R: CACCATGCCGTGGGTTCAATATT		
<i>uidA</i>	F: TGGTAATTACCGACGAAAACGGC	162	Molina et al. [27]
	R: ACGCGTGGTTACAGTCTTGCG		

F: forward (5′→3′); R: reverse (5′→3′); bp: base pairs.

For the *uidA* gene, the PCR thermocycling conditions were as follows: initial denaturation at 95 °C for 2 min, 35 cycles of denaturation at 95 °C for 1 min, annealing at 60 °C for 1 min, and extension at 72 °C for 1 min. For the *lacZB* gene, the PCR thermocycling conditions were initial denaturation at 94 °C for 5 min, 35 cycles of denaturation at 94 °C for 1 min, annealing at 60 °C for 1 min, and extension at 72 °C for 1 min, followed by a final extension at 72 °C for 8 min. Gene fragment amplification was carried out using the following thermocyclers: Life Express Thermal Cycler, model TC-96/G/H(b); Swift MiniPro Thermal Cycler, model SWT-MIP-0-2-1; and Life Touch Thermal Cycler, model TC-96/G/H(b)B. The PCR products were subjected to electrophoresis on 2% (*w/v*) agarose gel (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA, USA), stained with ethidium bromide (Sigma-Aldrich-Merck, Darmstadt, Germany), at a power setting of 50 W. The results were visualized under ultraviolet (UV) light using a 100 bp DNA ladder molecular weight marker (Ludwig Biotecnologia, Porto Alegre, Brazil).

3.5. Antimicrobial Susceptibility Profile of *E. coli*

The antimicrobial susceptibility test for *E. coli* strains was performed using the standard Kirby–Bauer disk diffusion method [53]. The bacterial inoculum was prepared by a direct suspension of microbial growth in Mueller–Hinton broth, adjusted to a turbidity equivalent to the 0.5 McFarland standard. The microbial inoculum was spread uniformly on the surface of a Mueller–Hinton agar plate using a sterile swab. After the inoculum dried, antimicrobial agent disks were applied. Results were obtained after 24 h of incubation at 37 °C by measuring the inhibition zone diameters in millimeters. The antimicrobials and reference values for interpreting inhibition zones are detailed in Table 6. *E. coli* showing

resistance to three or more antimicrobial agents from different classes were classified as multidrug-resistant (MDR).

Table 6. Antimicrobials, concentrations used, and reference values for the interpretation of inhibition zones in the antimicrobial susceptibility test for *Escherichia coli*.

Antimicrobials	Concentration	Class	S (mm)	I (mm)	R (mm)
Amoxicillin * (AMC)	20 + 10 µg	β-lactam/Penicillin	≤13	14–17	≥18
Cefotaxime (CTX)	30 µg	β-lactam/Cephalosporin	≤22	23–25	≥26
Ceftazidime (CAZ)	30 µg	β-lactam/Cephalosporin	≤17	18–20	≥21
Ciprofloxacin (CIP)	5 µg	Quinolone	≤21	22–25	≥26
Chloramphenicol (CLO)	30 µg	Phenicol	≤12	13–17	≥18
Gentamicin (GEN)	10 µg	Aminoglycoside	≤12	13–14	≥15
Imipenem (IMP)	10 µg	β-lactam/Carbapenem	≤19	20–22	≥23
Sulfonamide (SUL)	300 µg	Sulfonamide	≤13	14–17	≥18
Tetracycline (TET)	30 µg	Tetracycline	≤22	23–25	≥26

* Amoxicillin and clavulanic acid; µg: microgram; R: resistant; E: intermediate; S: susceptible; mm: millimeter.

Antimicrobial drugs were selected based on different classes and their importance for veterinary use (mainly in dairy cattle farming) and/or their relevance for human medicine. Thus, the drugs with the highest veterinary use include tetracyclines followed by the penicillin class (such as amoxicillin combined with clavulanic acid), the phenicol class (although chloramphenicol is banned, the fluorinated derivative florfenicol is licensed for the treatment of bacterial infections in food-producing animals), and the sulfonamide class (sulfonamides). On the other hand, the use of drugs such as ciprofloxacin (quinolones) and cefotaxime and ceftazidime (cephalosporins) in animal disease treatment is more restricted and controlled due to their critical importance in human medicine [54,55]. Although gentamicin (aminoglycoside) is permitted for veterinary use in Brazil, as in human medicine, its use is limited due to the risk of toxicity [56,57]. Finally, imipenem (carbapenem) is prohibited for use in animal treatment due to its critical importance in human medicine, where it is considered a last-resort antibiotic [58].

3.6. Detection of Antimicrobial Resistance Genes in *E. coli*

All 104 *E. coli* strains were examined for the presence of the following antimicrobial resistance genes: *sul1* and *sul2* (resistance to sulfonamides); *tetA* and *tetB* (resistance to tetracyclines); *blaCTX-M*, *blaTEM*, and *blaSHV* (resistance to β-lactams); and *cat1* and *clmA* (resistance to chloramphenicol). The primer sequences and PCR conditions are described in Table 7. Gene amplification was carried out using the following thermocyclers: Life Express Thermal Cycler, model TC-96/G/H(b); Swift MiniPro Thermal Cycler, model SWT-MIP-0-2-1; and Life Touch Thermal Cycler, model TC-96/G/H(b)B. For agarose gel electrophoresis, 8 microliters of the PCR amplification products, supplemented with 2 µL of bromophenol blue (Dinâmica Química, São Paulo, Brazil), was subjected to separation using 2% (*w/v*) agarose gel electrophoresis (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA, USA) under a constant voltage of 50 V. The DNA fragments were stained with ethidium bromide (Sigma-Aldrich-Merck, Darmstadt, Germany) and visualized under ultraviolet (UV) light. A 100 bp marker (Ludwig Biotecnologia, Porto Alegre, Brazil) was used as a molecular weight reference standard.

Table 7. Primer sequences for the detection of antimicrobial resistance genes in *Escherichia coli* and PCR conditions.

Gene	Primer Sequence (5' → 3') F and R	bp	PCR Conditions	Reference
<i>sul1</i>	CTTCGATGAGAGCCGGCGGC GCAAGGCGGAAACCCGCGCC	238	Initial denaturation at 94 °C for 5 min; 30 cycles of denaturation at 94 °C for 60 s; annealing at 56 °C for 60 s; extension at 68 °C for 60; 72 °C for 10 min for final extension	Qiu et al. [59]
<i>sul2</i>	GCGCTCAAGGCAGATGGCATT GCGTTTGATACCGGCACCCGT	293	Initial denaturation at 95 °C for 10 min; 35 cycles of denaturation at 94 °C for 45 s; annealing at 55 °C for 50 s; extension at 72 °C for 50; 72 °C for 10 min for final extension	Arabi et al. [60]
<i>tetA</i>	GGCGGTCTTCTTCATCATGC CGCAGGCAGAGCAAGTAGA	502	Initial denaturation at 94 °C for 60 s; 30 cycles of denaturation at 95 °C for 60 s; annealing at 55 °C for 60 s; extension at 72 °C for 60 s; 72 °C for 8 min for final extension	Belaynehe et al. [23]
<i>tetB</i>	TTGGTTAGGGCAAGTTTTG GTAATGGGCCAATAACACCG	659	Initial denaturation at 94 °C for 60 s; 30 cycles of denaturation at 95 °C for 30 s; annealing at 55 °C for 30 s; extension at 72 °C for 60 s; 72 °C for 8 min for final extension	Ahmed et al. [61]
<i>bla_{ctx-M}</i>	ATGTGCAGYACCAGTAARGTKATGGC TGGGTRAARTARGTSACCAGAAAYCAGCGG	592	Initial denaturation at 94 °C for 60 s; 36 cycles of denaturation at 94 °C for 30 s; annealing at 58 °C for 60 s; extension at 72 °C for 60 s; 72 °C for 10 min for final extension	Boyd et al. [62]
<i>bla_{TEM}</i>	TTGGGTGCACGAGTGGGTTA TAATTGTTGCCGGGAAGCTA	506	Initial denaturation at 95 °C for 3 min; 35 cycles of denaturation at 94 °C for 60 s; annealing at 55 °C for 60 s; extension at 72 °C for 1 s; 72 °C for 7 min for final extension	Gundran et al. [58]
<i>bla_{SHV}</i>	TCGGGCCGCGTAGGCATGAT AGCAGGGCGACAATCCCGCG	628	Initial denaturation at 95 °C for 3 min; 35 cycles of denaturation at 94 °C for 60 s; annealing at 55 °C for 60 s; extension at 72 °C for 1 s; 72 °C for 7 min for final extension	Gundran et al. [63]
<i>cat1</i>	AGTTGCTCAATGTACCTATAACC TTGTAATTCATTAAGCATTCTGCC	547	Initial denaturation at 94 °C for 5 min; 30 cycles of denaturation at 94 °C for 30 s; annealing at 50 °C for 30 s; extension at 72 °C for 1 s; 72 °C for 10 min for final extension	Van et al. [64]
<i>clmA</i>	CCGCCACGGTGTGTTGTTATC CACCTTGCTGCCCATCATTAG	698	Initial denaturation at 94 °C for 5 min; 30 cycles of denaturation at 94 °C for 30 s; annealing at 50 °C for 30 s; extension at 72 °C for 1 s; 72 °C for 10 min for final extension	Van et al. [64]

F: forward (5' → 3'); R: reverse (5' → 3'); bp: base pairs.

3.7. Statistical Analysis

To investigate potential associations between phenotypic and genotypic resistance categories across markets and cheeses, chi-square tests of independence were performed on the main categories. Cramér's V was computed to estimate effect sizes, and *p*-values were adjusted using the Benjamini–Hochberg procedure. The analyses indicated associations between market and resistance categories, as well as patterns of phenotypic and genotypic resistance distribution across cheeses. Statistical analyses were conducted in Python (version 3.11; Python Software Foundation, Wilmington, DE, USA).

4. Conclusions

In this study, a total of 104 *E. coli* strains were isolated from 22 samples of artisanal Minas Frescal cheese, with the highest rates of phenotypic antimicrobial resistance observed for sulfonamides (85.58%, 89/104) and tetracyclines (38.46%, 40/104). In the genotypic profiles, most *E. coli* isolates carried the sulfonamide resistance genes *sul1* and/or *sul2* (62.50%, 65/104), the tetracycline resistance genes *tetA* and/or *tetB* (65.38%, 68/104), and the β -lactam resistance genes *blaCTX-M*, *blaTEM*, and/or *blaSHV* (55.77%, 58/104). The high prevalence of *E. coli* strains exhibiting both phenotypic and genotypic antimicrobial resistance in artisanal Minas Frescal cheese raises public health concerns due to the potential dissemination of these resistance determinants through the food chain. These findings highlight the need for stricter regulation and more effective oversight of the production and commercialization processes of these artisanal cheeses, as well as the implementation of educational strategies for producers regarding the microbiological risks associated with these products.

Author Contributions: Conceptualization: L.F.S.R., I.C.R.d.S. and D.C.O.; methodology and validation: L.F.S.R., R.A.d.M., N.M.B., D.C.O. and I.C.R.d.S.; investigation and formal analysis: L.F.S.R., R.A.d.M., N.M.B., A.C.S.A., M.O.d.A., R.D.d.S., C.A.B., K.O.G., B.A.d.P.; writing—original draft preparation: D.C.O. and L.F.S.R.; writing—review and editing: D.C.O., I.C.R.d.S. and L.C.L.d.S.B.; Supervision: I.C.R.d.S., L.C.L.d.S.B. and D.C.O.; funding acquisition: D.C.O., L.C.L.d.S.B. and I.C.R.d.S. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This study was partly financed by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-Brasil (CAPES), Finance Code 001 for the scholarships; and FAPDF (Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal).

Institutional Review Board Statement: The study did not require ethical approval.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: The data presented in this study are available on request from the corresponding author. The data is not publicly available due to privacy interests.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

References

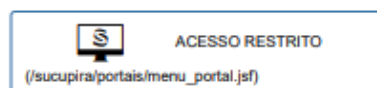
1. Carneiro Aguiar, R.A.; Ferreira, F.A.; Dias, R.S.; Nero, L.A.; Miotto, M.; Verruck, S.; De Marco, I.; De Dea Lindner, J. Graduate student literature review: Enterotoxigenic potential and antimicrobial resistance of *Staphylococci* from Brazilian artisanal raw milk cheeses. *J. Dairy Sci.* **2022**, *105*, 5685–5699. [CrossRef] [PubMed]
2. Castro, C. Brazil: Dairy and Products Annual USDA. 2023. Available online: <https://fas.usda.gov/data/brazil-dairy-and-products-annual-10> (accessed on 14 April 2025).
3. Siqueira, K.B. *Na Era do Consumidor: Uma Visão do Mercado Lático Brasileiro*; Edição do Autor: Juiz de Fora, MG, Brazil, 2021; 220p. Available online: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1134890> (accessed on 14 April 2025).
4. Rocha, R.S.; Silva, R.; Guimarães, J.T.; Balthazar, C.F.; Pimentel, T.C.; Neto, R.P.C.; Tavares, M.I.B.; Esmerino, E.A.; Freitas, M.Q.; Cappato, L.P.; et al. Possibilities for using ohmic heating in Minas Frescal cheese production. *Food Res. Int.* **2020**, *131*, 109027. [CrossRef]

5. Mercado Comum do Sul. Instrução Normativa n° 4, de 1 de Março de 2004. Technical Regulation on Minas Frescal Cheese—Standards of Identity and Quality. 2004. Available online: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/defesa-agropecuaria/suasa/regulamentos-tecnicos-de-identidade-e-qualidade-de-produtos-de-origem-animal-1/rtiq-leite-e-seus-derivados> (accessed on 14 April 2025).
6. Teider, P.I.; Ribeiro, J.C.; Ossugui, E.H.; Tamanini, R.; Ribeiro, J.; Santos, G.A.; Alfieri, A.A.; Beloti, V. *Pseudomonas* spp. and other psychrotrophic microorganisms in inspected and non-inspected Brazilian Minas Frescal Cheese: Proteolytic, lipolytic and *AprX* production potential. *Pesqui. Vet. Bras.* **2019**, *39*, 807–815. [CrossRef]
7. de Campos, A.C.L.P.; Puño-Sarmiento, J.J.; Medeiros, L.P.; Gazal, L.E.S.; Maluta, R.P.; Navarro, A.; Kobayashi, R.K.T.; Fagan, E.P.; Nakazato, G. Virulence genes and antimicrobial resistance in *Escherichia coli* from cheese made from unpasteurized milk in Brazil. *Foodborne Pathog. Dis.* **2018**, *15*, 94–100. [CrossRef]
8. Camargo, A.C.; de Araújo, J.P.A.; Fusieger, A.; de Carvalho, A.F.; Nero, L.A. Microbiological quality and safety of Brazilian artisanal cheeses. *Braz. J. Microbiol.* **2021**, *52*, 393–409. [CrossRef]
9. Cardozo, M.V.; Nespolo, N.; Delfino, T.C.; Almeida, C.C.; Pizauro, L.J.L.; Valmorbidia, M.K.; Pereira, N.; Ávila, F.A. Raw milk cheese as a potential infection source of pathogenic and toxigenic foodborne pathogens. *Food Sci. Technol.* **2021**, *41*, 355–358. [CrossRef]
10. Pena, R.H.R.; Freitas, F.; Castro, B.G. Hygienic-sanitary quality and antimicrobial sensitivity profile of *Escherichia coli* in milk and cheese sold illegally in municipalities of northern Mato Grosso, Brazil. *Arq. Inst. Biol.* **2021**, *88*, e0702019. [CrossRef]
11. Oliveira, M.D.; Santos, I.G.; Dias, B.P.; Nascimento, C.A.; Rodrigues, Ê.M.; Ribeiro Júnior, J.C.; Alfieri, A.A.; Alexandrino, B. Hygienic-health quality and microbiological hazard of clandestine Minas Frescal cheese commercialized in north Tocantins, Brazil. *Semin. Cienc. Agrar.* **2021**, *42*, 679–694. [CrossRef]
12. Pineda, A.P.A.; Campos, G.Z.; Pimentel-Filho, N.J.; Franco, B.D.G.M.; Pinto, U.M. Brazilian Artisanal Cheeses: Diversity, Microbiological Safety, and Challenges for the Sector. *Front. Microbiol.* **2021**, *12*, 666922. [CrossRef] [PubMed]
13. Pakbin, B.; Brück, W.M.; Rossen, J.W.A. Virulence factors of enteric pathogenic *Escherichia coli*: A review. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 9922. [CrossRef]
14. Poirel, L.; Madec, J.Y.; Lupo, A.; Schink, A.K.; Kieffer, N.; Nordmann, P.; Schwarz, S. Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli*. *Microbiol. Spectr.* **2018**, *6*, 10. [CrossRef]
15. Fang, J.; Shen, Y.; Qu, D.; Han, J. Antimicrobial resistance profiles and characteristics of integrons in *Escherichia coli* strains isolated from a large-scale centralized swine slaughterhouse and its downstream markets in Zhejiang, China. *Food Control* **2019**, *95*, 215–222. [CrossRef]
16. Stasiak, M.; Mackiw, E.; Kowalska, J.; Kucharek, K.; Postupolski, J. Silent genes: Antimicrobial resistance and antibiotic production. *Pol. J. Microbiol.* **2021**, *70*, 421–429. [CrossRef] [PubMed]
17. Lipszyc, A.; Szuplewska, M.; Bartosik, D. How do transposable elements activate expression of transcriptionally silent antibiotic resistance genes? *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 8063. [CrossRef] [PubMed]
18. Wu, H.; Dong, W.; Hu, X.; Xie, C.; Yang, X.; Li, C.; Li, G.; Lu, Y.; You, X. Silent or low expression of *bla*_{TEM} and *bla*_{SHV} suggests potential for targeted proteomics in clinical detection of β -lactamase-related antimicrobial resistance. *J. Pharm. Anal.* **2025**, *15*, 101220. [CrossRef]
19. Deekshit, V.K.; Srikumar, S. 'To be, or not to be'—The dilemma of 'silent' antimicrobial resistance genes in bacteria. *J. Appl. Microbiol.* **2022**, *133*, 2902–2914. [CrossRef]
20. Vk, D.; Srikumar, S.; Shetty, S.; Van Nguyen, S.; Karunasagar, I.; Fanning, S. Silent antibiotic resistance genes: A threat to antimicrobial therapy. *Int. J. Infect. Dis.* **2019**, *79*, 20. [CrossRef]
21. Ombarak, R.A.; Hinenoya, A.; Elbagory, A.M.; Yamasaki, S. Prevalence and molecular characterization of antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolated from raw milk and raw milk cheese in Egypt. *J. Food Prot.* **2018**, *81*, 226–232. [CrossRef]
22. Shoaib, M.; He, Z.; Geng, X.; Tang, M.; Hao, R.; Wang, S.; Shang, R.; Wang, X.; Zhang, H.; Pu, W. The emergence of multi-drug resistant and virulence gene carrying *Escherichia coli* strains in the dairy environment: A rising threat to the environment, animal, and public health. *Front. Microbiol.* **2023**, *14*, 1197579. [CrossRef]
23. Belaynehe, K.M.; Shin, S.W.; Yoo, H.S. Interrelationship between tetracycline resistance determinants, phylogenetic group affiliation and carriage of class 1 integrons in commensal *Escherichia coli* isolates from cattle farms. *BMC Vet. Res.* **2018**, *14*, 340. [CrossRef]
24. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa N° 161, 1 de Julho de 2022. Establishes the Microbiological Standards for Food. 2022. Available online: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-in-n-161-de-1-de-julho-de-2022-413366880> (accessed on 14 April 2025).
25. Mohamed, M.-Y.I.; Habib, I. Pathogenic *E. coli* in the food chain across the Arab countries: A descriptive review. *Foods* **2023**, *12*, 3726. [CrossRef] [PubMed]

26. Barbau-Piednoir, E.; Denayer, S.; Botteldoorn, N.; Dierick, K.; De Keersmaecker, S.C.J.; Roosens, N.H. Detection and discrimination of five *E. coli* pathotypes using a combinatory SYBR[®] Green qPCR screening system. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2018**, *102*, 3267–3285. [CrossRef]
27. Molina, F.; López-Acedo, E.; Tabla, R.; Roa, I.; Gómez, A.; Rebollo, J.E. Improved detection of *Escherichia coli* and coliform bacteria by multiplex PCR. *BMC Biotechnol.* **2015**, *15*, 48. [CrossRef]
28. Zarei Ahmady, A.; Aliyan Aliabadi, R.; Amin, M.; Ameri, A.; Abbasi Montazeri, E. Occurrence of diarrheagenic *Escherichia coli* pathotypes from raw milk and unpasteurized buttermilk by culture and multiplex polymerase chain reaction in southwest Iran. *Mol. Biol. Rep.* **2023**, *50*, 3661–3667. [CrossRef]
29. Alsanjary, L.H.; Sheet, O.H. Molecular detection of *uidA* gene in *Escherichia coli* isolated from the dairy farms in Nineveh governorate, Iraq. *Iraqi J. Vet. Sci.* **2022**, *36*, 599–603. [CrossRef]
30. Ribeiro, L.F.; Rossi, G.A.M.; Sato, R.A.; de Souza Pollo, A.; Cardozo, M.V.; Amaral, L.A.; Fairbrother, J.M. Epidemiology, virulence and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from small Brazilian farms producers of raw milk fresh cheese. *Microorganisms* **2024**, *12*, 1739. [CrossRef]
31. Messele, Y.E.; Abdi, R.D.; Tegegne, D.T.; Bora, S.K.; Babura, M.D.; Emeru, B.A.; Weird, G.M. Analysis of milk-derived isolates of *E. coli* indicating drug resistance in central Ethiopia. *Trop. Anim. Health Prod.* **2019**, *51*, 661–667. [CrossRef]
32. Hassanien, A.A.; Shaker, E.M. Investigation of the effect of chitosan and silver nanoparticles on the antibiotic resistance of *Escherichia coli* O157:H7 isolated from some milk products and diarrheal patients in Sohag city, Egypt. *Vet. World* **2020**, *13*, 1647–1653. [CrossRef] [PubMed]
33. Joubrane, K.; Jammoul, A.; Daher, R.; Ayoub, S.; El Jed, M.; Hneino, M.; El Hawari, K.; Al Iskandarani, M.; Daher, Z. Microbiological contamination, antimicrobial residues, and antimicrobial resistance in raw bovine milk in Lebanon. *Int. Dairy J.* **2022**, *134*, 105455. [CrossRef]
34. Food and Drug Administration. Antimicrobials Sold or Distributed for Use in Food-Producing Animals. 2021. Available online: <https://www.fda.gov/animal-veterinary/cvm-updates/fda-releases-annual-summary-report-antimicrobials-sold-or-distributed-2021-use-food-producing> (accessed on 14 April 2025).
35. Kasem, N.G.; Al-Ashmawy, M.; Elsherbini, M.; Abdelkhalek, A. Antimicrobial resistance and molecular genotyping of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* isolated from some Egyptian cheeses. *J. Adv. Vet. Anim. Res.* **2021**, *8*, 246–255.
36. Hussein, N.D.; Hassan, J.W.; Osman, M.; El-Omari, K.; Kharroubi, S.A.; Toufeili, I.; Kassem, I.I. Assessment of the microbiological acceptability of white cheese (Akkawi) in Lebanon and the antimicrobial resistance profiles of associated *Escherichia coli*. *Antibiotics* **2023**, *12*, 610. [CrossRef]
37. Adzitey, F.; Yussif, S.; Ayamga, R.; Zuberu, S.; Addy, F.; Adu-Bonsu, G.; Huda, N.; Kobun, R. Antimicrobial susceptibility and molecular characterization of *Escherichia coli* recovered from milk and related samples. *Microorganisms* **2022**, *10*, 1335. [CrossRef]
38. Jiang, H.; Dong, Y.; Jiao, X.; Tang, B.; Feng, T.; Li, P.; Fang, J. In vivo fitness of *sul* gene-dependent sulfonamide-resistant *Escherichia coli* in the mammalian gut. *mSystems* **2024**, *9*, e0083624. [CrossRef]
39. Los Santos, E.; Laviña, M.; Poey, M.E. Strict relationship between class 1 integrons and resistance to sulfamethoxazole in *Escherichia coli*. *Microb. Pathog.* **2021**, *161*, 105206. [CrossRef]
40. Sánchez-Osuna, M.; Cortés, P.; Barbé, J.; Erill, I. Origin of the mobile di-hydro-pterolate synthase gene determining sulfonamide resistance in clinical isolates. *Front. Microbiol.* **2019**, *9*, 3332. [CrossRef] [PubMed]
41. Kuzeubayeva, A.; Ussenbayev, A.; Aydin, A.; Akanova, Z.; Rychshanova, R.; Abdullina, E.; Seitkamzina, D.; Sakharia, L.; Ruzmatov, S. Contamination of Kazakhstan cheeses originating from *Escherichia coli* and its resistance to antimicrobial drugs. *Vet. World* **2024**, *17*, 361–370. [CrossRef]
42. Roberts, M.C.; Schwarz, S. Tetracycline and phenicol resistance genes and mechanisms: Importance for agriculture, the environment, and humans. *J. Environ. Qual.* **2016**, *45*, 576–592. [CrossRef]
43. Grossman, T.H. Tetracycline antibiotics and resistance. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **2016**, *6*, a025387. [CrossRef]
44. Perewari, D.O.; Otokunefor, K.; Agbagwa, O.E. Tetracycline-resistant genes in *Escherichia coli* from clinical and nonclinical sources in rivers state, Nigeria. *Int. J. Microbiol.* **2022**, *2022*, 9192424. [CrossRef] [PubMed]
45. Møller, T.S.B.; Overgaard, M.; Nielsen, S.S.; Bortolaia, V.; Sommer, M.O.A.; Guardabassi, L.; Olsen, J.E. Relation between *tetR* and *tetA* expression in tetracycline resistant *Escherichia coli*. *BMC Microbiol.* **2016**, *16*, 39. [CrossRef] [PubMed]
46. Tabaran, A.; Mihaiu, M.; Tăbăran, F.; Colobatiu, L.; Reget, O.; Borzan, M.M.; Dan, S.D. First study on characterization of virulence and antibiotic resistance genes in verotoxigenic and enterotoxigenic *E. coli* isolated from raw milk and unpasteurized traditional cheeses in Romania. *Folia Microbiol.* **2017**, *62*, 145–150. [CrossRef]
47. Salinas, L.; Loayza, F.; Cárdenas, P.; Saraiva, C.; Johnson, T.J.; Amato, H.; Graham, J.P.; Trueba, G. Environmental spread of extended spectrum beta-lactamase (ESBL) producing *Escherichia coli* and ESBL genes among children and domestic animals in Ecuador. *Environ. Health Perspect.* **2021**, *129*, 27007. [CrossRef]

48. Bastidas-Caldes, C.; Romero-Alvarez, D.; Valdez-Vélez, V.; Morales, R.D.; Montalvo-Hernández, A.; Gomes-Dias, C.; Calvopiña, M. Extended-spectrum beta-lactamases producing *Escherichia coli* in South America: A systematic review with a one health perspective. *Infect. Drug Resist.* **2022**, *15*, 5759–5779. [CrossRef] [PubMed]
49. Castanheira, M.; Simner, P.J.; Bradford, P.A. Extended-spectrum β -lactamases: An update on their characteristics, epidemiology and detection. *JAC-Antimicrob. Resist.* **2021**, *3*, dlab092. [CrossRef] [PubMed]
50. Eldesoukey, I.E.; Elmonir, W.; Alouffi, A.; Beleta, E.I.M.; Kelany, M.A.; Elnahriry, S.S.; Alghonaim, M.I.; alZeyadi, Z.A.; Elaadli, H. Multidrug-resistant enteropathogenic *Escherichia coli* isolated from diarrhoeic calves, milk, and workers in dairy farms: A potential public health risk. *Antibiotics* **2022**, *11*, 999. [CrossRef]
51. Brasil. Instrução Normativa MAPA nº 09, de 27 de Junho de 2003. The Manufacture, Handling, Splitting, Marketing, Importation, and Use of the Active Ingredient's Chloramphenicol and Nitrofurans, as Well as Any Products Containing These Substances, Are Prohibited for Veterinary Use and for Any Use in the Feeding of All Animals and Insects. Available online: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/resistencia-aos-antimicrobianos/legislacao/proibicoes-de-aditivos-na-alimentacao-animal> (accessed on 14 April 2025).
52. Feng, P.; Weagant, S.D.; Grant, M.A.; Burkhardt, W. Chapter 4: Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform bacteria. In *Bacteriological Analytical Manual (BAM)*; FDA: Silver Spring, MD, USA, 2020. Available online: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-4-enumeration-escherichia-coli-and-coliform-bacteria> (accessed on 14 April 2025).
53. Clinical & Laboratory Standards Institute. *M02 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*, 14th ed.; CLSI: Wayne, PA, USA, 2024.
54. World Organization for Animal Health. *Annual Report on Antimicrobial Agents Intended for Use in Animals*, 8th ed.; World Organization for Animal Health: Paris, France, 2024; pp. 1–44.
55. Virto, M.; Santamarina-García, G.; Amores, G.; Hernández, I. Antibiotics in dairy production: Where is the problem? *Dairy* **2022**, *3*, 541–564. [CrossRef]
56. Le, T.A.; Hiba, T.; Chaudhari, D.; Preston, A.N.; Palowsky, Z.R.; Ahmadzadeh, S.; Shekoohi, S.; Cornett, E.M.; Kaye, A.D. Aminoglycoside-related nephrotoxicity and ototoxicity in clinical practice: A review of pathophysiological mechanism and treatment options. *Adv. Ther.* **2023**, *40*, 1357–1365. [CrossRef]
57. Brito, D.A.P.; Costa, F.N. Antimicrobial resistance of bacterial agents of bovine mastitis from dairy properties in the metropolitan region of São Luís—MA. *Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.* **2024**, *25*, e20230033. [CrossRef]
58. European Union. Commission Delegated Regulation (EU) 2022/1255 of 19 May 2022 supplementing Regulation (EU) 2019/6 of the European Parliament and of the Council by establishing the criteria for the designation of antimicrobials to be reserved for the treatment of certain infections in humans. *Off. J. Eur. Union* **2022**, *20*, 7.
59. Qiu, J.; Jiang, Z.; Ju, Z.; Zhao, X.; Yang, J.; Guo, H.; Sun, S. Molecular and phenotypic characteristics of *Escherichia coli* isolates from farmed minks in Zhucheng, China. *BioMed Res. Int.* **2019**, *2019*, 3917841. [CrossRef]
60. Arabi, H.; Pakzad, I.; Nasrollahi, A.; Hosainzadegan, H.; Azizi Jalilian, F.; Taherikalani, M.; Samadi, N.; Monadi Sefidan, A. Sulfonamide resistance genes (sul) M in extended spectrum beta lactamase (ESBL) and non-ESBL producing *Escherichia coli* isolated from Iranian hospitals. *Jundishapur J. Microbiol.* **2015**, *8*, e19961. [CrossRef]
61. Ahmed, M.O.; Clegg, P.D.; Williams, N.J.; Baptiste, K.E.; Bennett, M. Antimicrobial resistance in equine faecal *Escherichia coli* isolates from North West England. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* **2010**, *9*, 12. [CrossRef] [PubMed]
62. Boyd, D.A.; Tyler, S.; Christianson, S.; McGeer, A.; Muller, M.P.; Willey, B.M.; Bryce, E.; Gardam, M.; Nordmann, P.; Mulvey, M.R. Complete nucleotide sequence of a 92-kilobase plasmid harboring the CTX-M-15 extended-spectrum beta-lactamase involved in an outbreak in long-term-care facilities in Toronto, Canada. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2004**, *48*, 3758–3764. [CrossRef] [PubMed]
63. Gundran, R.S.; Cardenio, P.A.; Villanueva, M.A.; Sison, F.B.; Benigno, C.C.; Kreausukon, K.; Pichpol, D.; Punyapornwithaya, V. Prevalence and distribution of *bla*_{CTX-M}, *bla*_{SHV}, *bla*_{TEM} genes in extended-spectrum β -lactamase-producing *E. coli* isolates from broiler farms in the Philippines. *BMC Vet. Res.* **2019**, *15*, 227. [CrossRef] [PubMed]
64. Van, T.T.; Chin, J.; Chapman, T.; Tran, L.T.; Coloe, P.J. Safety of raw meat and shellfish in Vietnam: An analysis of *Escherichia coli* isolations for antibiotic resistance and virulence genes. *Int. J. Food Microbiol.* **2008**, *124*, 217–223. [CrossRef]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.



INÍCIO (/SUCUPIRA/PUBLIC/INDEX.JSF) >> Qualis >> Qualis Periódicos

Qualis Periódicos

* Evento de Classificação:

CLASSIFICAÇÕES DE PERIÓDICOS QUADRIÊNIO 2017-2020 ▾

Área de Avaliação:

INTERDISCIPLINAR ▾ +

ISSN:

2079-6382

Título:

Classificação:

-- SELECIONE -- ▾

Periódicos

ISSN	Título	Área com publicação no quadriênio	Classificação	Área mãe
2079-6382	ANTIBIOTICS-BASEL	INTERDISCIPLINAR	A3	BIODIVERSIDADE

▾

1 a 1 de 1 registro(s)

(/sucupira/public/index.xhtml)

(http://www.capes.gov.br)

(http://www.ufrn.br)

(https://www.mp.br)

Compartilhe

(http://www.google.com/intl/pt-BR/chrome/)

(http://br.mozdev.org/firefox/download/)

(http://www.apple.com/safari/download/)

Versão do sistema: 3.95.0 | Copyright 2022 Capes. Todos os direitos reservados.

1 resultados

Acesso aberto

Sim



Tipo de base de dados

Selecione

Revisado por pares

Sim



Limpar filtros

Filtrar

Selecionar tudo

Exportar ▾

PERIÓDICO



ACESSO ABERTO



REVISADO POR PARES

1 ANTIBIOTICS-BASEL

PubMed Central (PMC)

[Ver no editor](#)

Disponibilidade ▾

Exibir 30 ▾

1-1 de 1 itens

Página 1 ▾

