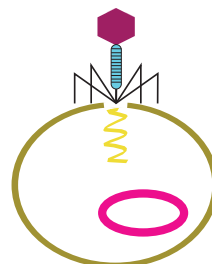
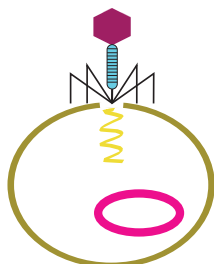
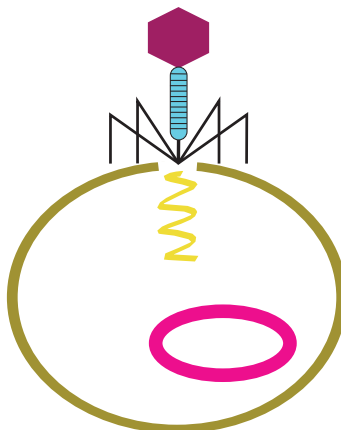
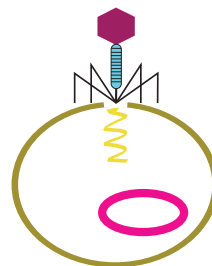
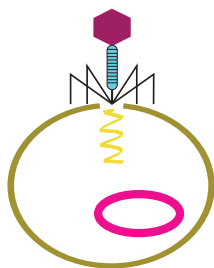


Contribuições na prevenção da resistência aos antimicrobianos

Bacteriófagos para controle de bactérias na avicultura



Clarissa Silveira Luiz Vaz
Daiane Voss-Rech
Francisco Noé da Fonseca



Contribuições na prevenção da resistência aos antimicrobianos: bacteriófagos para controle de bactérias na avicultura¹

A problemática

A perspectiva de aumento de dois bilhões de indivíduos na população mundial nos próximos 30 anos traz consigo o desafio de produzir alimentos de maneira sustentável, em volume e qualidade capazes de garantir a segurança alimentar. Junto com a tendência de melhoria de renda nos países em desenvolvimento e ampliação do acesso a alimentos, esse cenário exigirá aumento da produção de proteína animal. Todavia, vários gargalos restringem o crescimento da produtividade, como escassez hídrica, mudanças climáticas, e oferta de mão de obra. Para contorná-los, o setor de proteína animal tem induzido o desenvolvimento de soluções tecnológicas e inovações que facilitem o alinhamento aos novos paradigmas de produção e atendam às expectativas dos consumidores.

Um fator crítico para ampliar a capacidade de produção e garantir a inocuidade dos alimentos é a condição sanitária dos rebanhos e plantéis. Nesse sentido, a resistência a antimicrobianos tem sido um tema globalmente prioritário no direcionamento de políticas públicas pela inter-relação com a saúde animal, humana e o ambiente, afetando diretamente a capacidade de combater bactérias. A maciça disseminação de micro-organismos multirresistentes após 50 anos do início do uso terapêutico dos primeiros antimicrobianos, o aumento de cepas bacterianas refratárias aos fármacos atualmente disponíveis e a falta de desenvolvimento de novas classes de antimicrobianos

¹ Clarissa Silveira Luiz Vaz, Médica Veterinária, doutora em Ciências Veterinárias, pesquisadora da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC; Daiane Voss-Rech, Bióloga, mestre em Medicina Veterinária, analista da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC; Francisco Noé da Fonseca, Farmacêutico, doutor em Ciências Farmacêuticas, analista da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC.

alertam para a dificuldade futura de enfrentamento de bactérias virtualmente intratáveis, mesmo em infecções simples.

Essa perspectiva evidencia que o combate à resistência aos antimicrobianos não pode mais ser adiado. Em alinhamento às ações nacionais para combater a resistência aos antimicrobianos na agropecuária, a Embrapa Suínos e Aves tem atuado na prospecção de insumos biológicos para controle de bactérias relevantes na avicultura. Abordamos aqui o potencial e os desafios do uso de bacteriófagos líticos no controle de salmonelas paratíficas na avicultura. Esse insumo biológico não pretende substituir o uso terapêutico de antibióticos, mas se apresenta como uma opção não antibiótica para controle de salmoneloses, reduzindo o uso desnecessário de antimicrobianos.

Essa publicação está alinhada ao Objetivo de Desenvolvimento Sustentável (ODS) 2, contribuindo para o atingimento da meta 2.4; e ao ODS 3, contribuindo para o alcance da meta 3.d.

Resistência a antimicrobianos

Antimicrobianos compreendem qualquer agente ou substância derivada de fontes naturais ou sintéticas que atuam sobre qualquer micro-organismo (WHO, 2018). Aqui, os antimicrobianos serão abordados como fármacos que inibem ou inativam bactérias. Os antimicrobianos podem ser usados em animais de produção com propósito terapêutico, profilático ou como melhoradores de desempenho (Mehdi et al., 2018). Nos dois primeiros casos, visam tratar ou prevenir doenças bacterianas. Já os melhoradores de desempenho são usados em doses subterapêuticas que visam aumentar a eficiência do ganho de peso e conversão alimentar. Enquanto os usos terapêutico e profilático desempenham papel crítico na saúde e bem-estar animal, o uso de antimicrobianos como melhoradores de desempenho já está proibido em vários países e vem declinando no Brasil, seguindo a tendência mundial.

A resistência é entendida como o crescimento de populações do micro-organismo na presença de concentrações citotóxicas do antimicrobiano (Wright, 2007). Pode ser intrínseca, que independe da influência do antimicrobiano; ou

adquirida, que decorre de mutações pontuais no DNA bacteriano ou da aquisição de genes carregados por elementos móveis, como plasmídeos, transposons, integrons ou bacteriófagos lisogênicos. Essa resistência manifesta-se por meio de mecanismos celulares sofisticados: produção de enzimas que inativam os antimicrobianos, redução da permeabilidade celular, desenvolvimento de rotas metabólicas alternativas, eliminação do fármaco por bombas de efluxo ou alteração do sítio-alvo do antimicrobiano (McManus, 1997; Lekshmi et al., 2017; Mehdi et al., 2018). O desenvolvimento de resistência a antimicrobianos é um fenômeno natural, já que ao longo da sua evolução os micro-organismos desenvolvem estratégias de adaptação frente a uma infinidade de desafios ambientais (Wright, 2007; Larsen et al., 2022). Contudo, o uso massivo de antimicrobianos em humanos e animais e a contínua pressão seletiva têm favorecido o surgimento de bactérias resistentes. Isso fomenta o debate sobre formas de preservar os antimicrobianos disponíveis e reduzir a disseminação de bactérias resistentes no ambiente e a sua transmissão aos humanos pelo contato com animais ou pelo consumo de alimentos de origem animal.

No que diz respeito à saúde pública, cerca de 700.000 mortes anuais são atribuídas à resistência aos antimicrobianos mundialmente, cujo impacto econômico pode atingir 100 trilhões de dólares até 2050 (Jee et al., 2018). A resistência a antimicrobianos restringe as possibilidades terapêuticas com os fármacos atualmente disponíveis, ao passo que o desenvolvimento de novos compostos é um processo longo e oneroso, e que nem sempre resulta em substâncias com potencial de uso clínico. Em face à perspectiva de retorno à era pré-antibióticos e do impacto que isso representa à saúde humana e animal, a aliança entre Organização Mundial da Saúde (WHO), Organização Mundial da Saúde Animal (WOAH) e Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) desenvolveu o Plano de Ação Global em Resistência aos Antimicrobianos, que visa ampliar o conhecimento, monitorar, reduzir as infecções, otimizar o uso dos antimicrobianos e aumentar investimentos para o desenvolvimento de novos fármacos antimicrobianos, ferramentas de diagnóstico e intervenções (WHO, 2015). Num esforço para preservar a eficácia dos fármacos atualmente disponíveis por meio do uso

prudente, a WHO categorizou os antimicrobianos de importância médica, sendo as quinolonas, as cefalosporinas (3^o, 4^o e 5^o geração), os macrolídeos e cetolídeos, os glicopeptídeos e as polimixinas os compostos de mais alta prioridade dentro dos criticamente importantes (WHO, 2018). Por sua vez, a lista de antimicrobianos de importância veterinária elaborada pela WOAHA exclui aqueles que são de uso exclusivo na medicina humana, e orienta que as classes incluídas na categoria de alta prioridade da WHO sejam priorizadas na eliminação gradativa de seu uso como melhoradoras de desempenho animal (WOAHA, 2019).

Alinhado ao plano de ação global, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), em conjunto com o setor privado, órgãos estatutários de profissionais agropecuários e instituições de ensino, pesquisa e fomento setorial, definiu o Plano de Ação Nacional para Prevenção e Controle da Resistência aos Antimicrobianos no âmbito da agropecuária (PAN-BR Agro) (Brasil, 2018). O PAN-BR Agro apresenta estratégias operacionais, cujos macrotemas de pesquisa para a suinocultura e avicultura foram priorizados após oficina realizada com a participação do MAPA, instituições de pesquisa e academia, profissionais de ambos os setores produtivos, e indústria de insumos veterinários e alimentação animal. Entre os temas de pesquisa destacados, foi apontada a necessidade do desenvolvimento de produtos alternativos que contribuam para reduzir o volume de antimicrobianos usados na produção animal (Brasil, 2018).

Segundo levantamento da indústria nacional de saúde animal para todas as espécies representadas, incluindo pets, houve uma tendência de redução nas vendas de antimicrobianos de 2015 a 2020 e estabilidade da demanda por insumos biológicos. Na estratificação por espécie, o segmento avícola absorveu 14% das vendas totais de produtos para saúde animal em 2020 (SINDAN, 2022). É muito provável que as empresas alinhem seus portfólios de produtos avícolas às necessidades de mercado, especialmente frente à necessidade de reduzir o uso de antimicrobianos na produção animal, o que deve estimular a oferta de produtos alternativos para a alimentação e a sanidade. É um cenário favorável para o crescimento dos insumos biológicos, que parecem ter potencial de mercado especialmente nas espécies em que

é preciso prevenir ou tratar problemas específicos de forma a minimizar seu impacto na produtividade e na segurança dos alimentos, como no caso da avicultura de corte. Nesse sentido, bacteriófagos líticos nativos são potenciais ativos para o desenvolvimento de aditivos zootécnicos que atendem a um nicho específico no mercado de biológicos. A ampliação do rol de produtos biológicos alternativos para a avicultura converge com os objetivos do PAN-BR Agro, mas o potencial de mercado para bacteriófagos precisa ser mensurado. Embora sejam mundialmente conhecidos há muito tempo, ainda são praticamente incipientes na indústria nacional.

Bacteriófagos

Bacteriófagos (fagos) compreendem vírus de ocorrência ubíqua nos diversos ecossistemas e que infectam especificamente bactérias. Tendem a apresentar espectro de ação limitado a determinadas cepas de uma dada espécie bacteriana, a partir de receptores específicos distribuídos na superfície da bactéria, e não são nocivos a humanos e animais (Colavecchio; Goodridge, 2017). Fagos virulentos (líticos) introduzem seus ácidos nucleicos na célula hospedeira, desencadeando a replicação e formação de novas partículas virais que rompem a membrana da bactéria durante sua liberação. Essa progênie é capaz de infectar novas bactérias suscetíveis, repetindo o ciclo lítico e caracterizando a natureza autorreplicante desses vírus (Żbikowska et al., 2020). A ação bactericida seletiva dos fagos líticos é explorada no controle biológico de bactérias patogênicas, sem afetar a microbiota comensal do hospedeiro. Por outro lado, os fagos temperados penetram na célula-alvo e integram seu material genético ao genoma da bactéria, o qual permanece num estado quiescente, sendo transferido à progênie bacteriana durante a replicação celular e caracterizando o ciclo lisogênico (Figura 1). Essa relação confere vantagens seletivas para a bactéria hospedeira, como a expressão de genes do fago que codificam fatores de virulência ou outras propriedades, como resistência a antimicrobianos. Eventualmente, fagos temperados retomam o ciclo lítico, porém não são candidatos ao uso em insumos biológicos (Tsonos et al., 2014; Żbikowska et al., 2020).

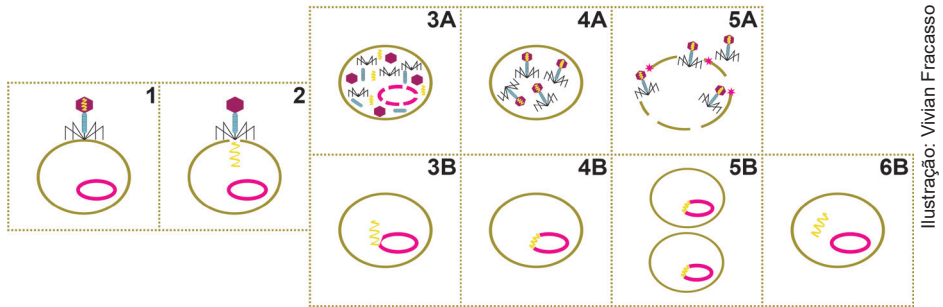


Figura 1. Ciclo de vida dos bacteriófagos: a partir da ligação a receptores específicos (1) e inserção de seus ácidos nucleicos na bactéria-alvo (2), há fagos que desencadeiam ciclo lítico (3A-5A) ou ciclo lisogênico (3B-6B).

A Coleção de Micro-organismos para o Interesse da Suinocultura e Avicultura (CMISEA) da Embrapa Suínos e Aves contém bacteriófagos líticos para salmonelas, isolados de aves no Sul do Brasil. Produzem placas de lise claras e bem definidas sobre cultivos confluentes da bactéria (Figura 2). Apresentam ainda estrutura morfológica de cabeça e cauda, medindo entre 80 nm e 120 nm (Fiorentin et al., 2002). Três desses fagos (BRMSA 1/BRM 13312, BRMSA 2/BRM 13313 e BRMSA 3/BRM 13314, doravante BRM) demonstram ação lítica sobre uma diversidade de cepas de campo de salmonelas avícolas (Tabela 1). Cabe destacar que eles não têm efeito sobre outras bactérias, como *Campylobacter*, *Escherichia coli* ou *Clostridium*, refletindo sua especificidade. O sequenciamento genômico total revelou que pertencem à espécie *Duplodnaviria*, gênero *Caudovirales*, família *Ackermannviridae*. São distintos entre si, inéditos, e não possuem genes de resistência a antimicrobianos nem de integrases. Essas características reforçam o caráter lítico e a segurança no desenvolvimento de insumo para controle biológico de salmonelas paratíficas.

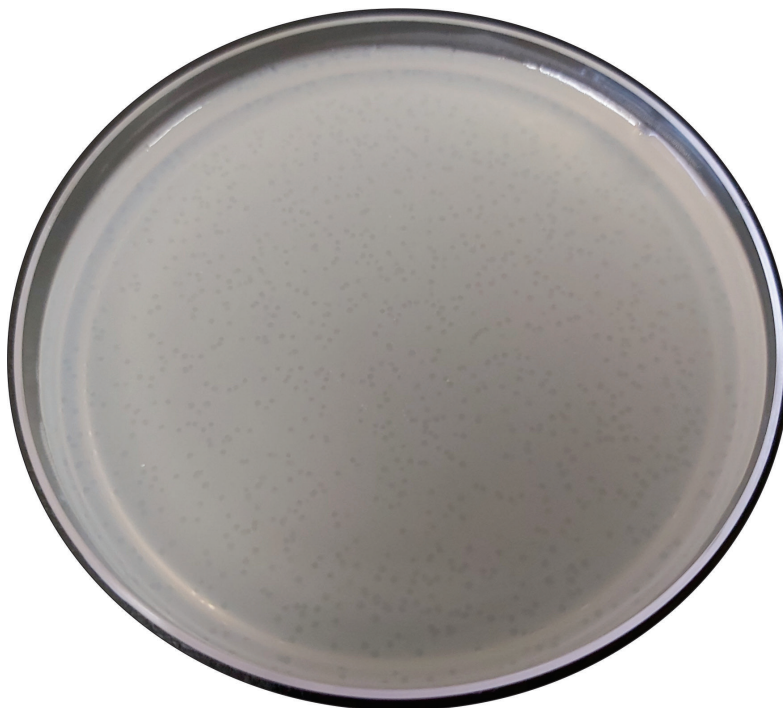


Foto: Daiane Voss-Rech

Figura 2. Placas de lise produzidas por bacteriófago lítico após 24 horas de incubação sobre cultivo conflente de *Salmonella* Enteritidis.

Tabela 1. Ação Lítica dos bacteriófagos nativos sobre salmonelas aviárias.

<i>Salmonella</i>	Sorogrupo	Bacteriófago		
		BRM 13312	BRM 13313	BRM 13314
<i>S. Typhimurium</i>	B	+	+	+
<i>S. Heidelberg</i>	B	+	+	+
<i>S. Enteritidis</i>	D	+	+	+
<i>S. Panama</i>	D	+	+	+
<i>S. Gallinarum</i> bv. <i>Gallinarum</i>	D	+	+	+
<i>S. Gallinarum</i> bv. <i>Pullorum</i>	D	+	+	+
<i>S. Minnesota</i>	L	-	-	+

A ação *in vitro* desses três fagos sobre cepas de campo de *S. Heidelberg*, *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium* foi medida por meio da incubação individual dos cultivos com cada bacteriófago a 37 °C por 3 h, usando uma multiplicidade de infecção (MOI) média de 5. A maior redução das salmonelas foi obtida pelo fago BRM 13312 (Tabela 2), e o efeito dos três fagos foi superior sobre *S. Heidelberg* (Figura 3A). A concentração média dos fagos ao final do tempo de incubação foi superior ao início (Figura 3B), indicando a habilidade de replicarem na bactéria-alvo. No que diz respeito à ação *in vivo*, a replicação de bacteriófagos no organismo hospedeiro é um fator essencial para controlar a bactéria-alvo. Além disso, o desempenho individual de cada fago reforça que coquetéis contendo bacteriófagos que atuam sobre receptores distintos na bactéria-alvo podem otimizar a eficiência bactericida e limitar o desenvolvimento de resistência. De fato, cepas de bactérias resistentes podem ser selecionadas durante a fagoterapia como um processo adaptativo natural, por meio de mecanismos como mutações espontâneas, digestão de ácidos nucleicos dos fagos ou imunidade adaptativa (Wang et al., 2019).

Tabela 2. Redução média *in vitro* de *Salmonella* (\log_{10} UFC/mL) após 3 horas de incubação a 37 °C com bacteriófagos líticos nativos.

<i>Salmonella</i>	Bacteriófago		
	BRM 13312	BRM 13313	BRM 13314
<i>S. Heidelberg</i>	1,46	0,97	0,87
<i>S. Enteritidis</i>	1,49	0,58	0,65
<i>S. Typhimurium</i>	1,48	0,48	0,65

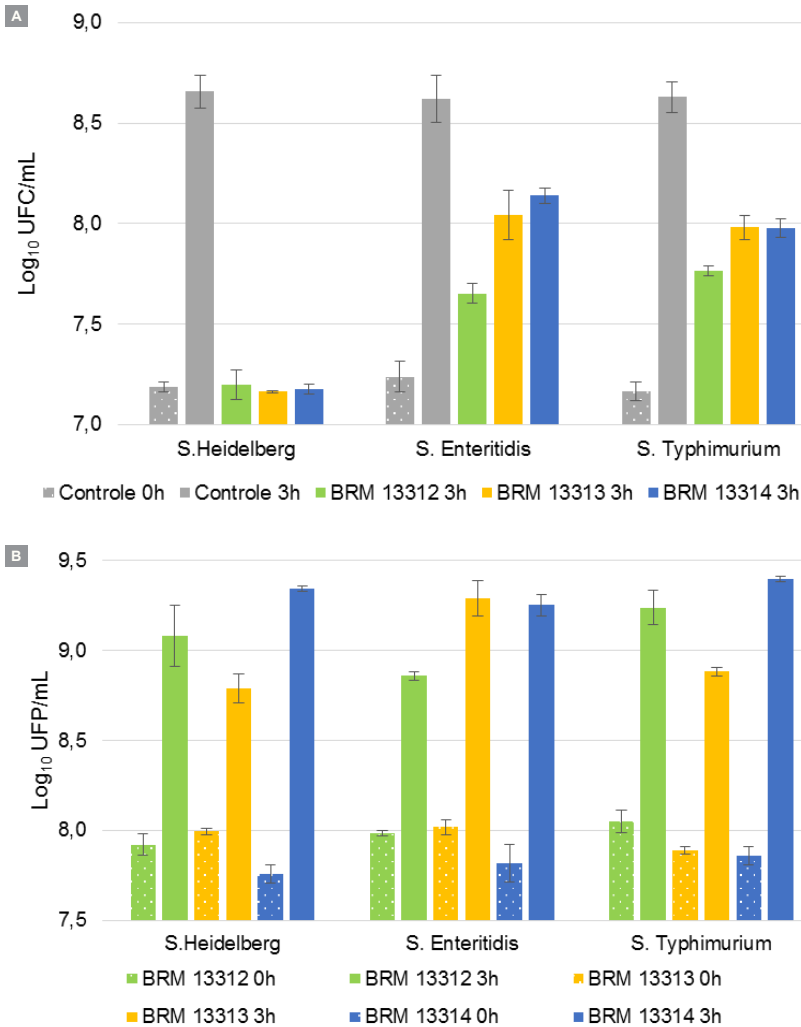


Figura 3. Redução *in vitro* de cepas de campo de *Salmonella* após 3 h de incubação com bacteriófagos BRM 13312, BRM 13313 e BRM 13314 (A). Concentração de bacteriófagos no início (0 h) e final do teste (3 h) (B). Controle 0 h: cultivo não tratado com fagos no início do teste. Controle 3 h: cultivo não tratado com fagos ao final do teste.

Além da seleção dos fagos mais efetivos, o desempenho *in vivo* de um insu- mo à base de bacteriófagos depende da via e do momento mais adequado de administração. Sendo um produto para controle de salmonelas paratifi- cas em frangos, o coquetel com esses bacteriófagos é administrado via oral, possibilitando a entrega e atuação no trato intestinal (sítio de colonização pela bactéria). Esses fagos são estáveis em água à temperatura ambiente (Vaz et al., 2020) e seu fornecimento aos frangos por meio da água de beber tem se mostrado praticável e possível de escalonar em condições de campo. Para preservar a eficácia dos fagos e evitar surgimento de cepas bacterianas resistentes, o coquetel tem sido administrado por um curto período, próximo ao abate. Essa estratégia possibilita reduzir a frequência de aves positivas para salmonelas em idade pré-abate, contribuindo para minimizar a pressão de contaminação de carcaças no processamento. Frangos tratados com o coquetel de fagos ($8,9 \times 10^{10}$ UFP/ave/dia) entre 35 e 39 dias de idade apre- sentaram menor contagem de *S. Heidelberg* no conteúdo cecal aos 40 dias em relação ao nível inicial aos 33 dias, sendo detectado efeito de tratamento ($p \leq 0,05$) (Tabela 3). A concentração média de fagos no conteúdo cecal das aves do grupo tratado foi de $6,45 (\pm 0,26) \log_{10}$ UFP/g, evidenciando sua pre- sença no sítio de atuação *in vivo*. O efeito do tratamento próximo à idade de abate (31 a 36 dias) foi também demonstrado sobre *S. Enteritidis*, em condi- ções semelhantes. A redução cecal média de *S. Enteritidis* pós-tratamento foi $1,08 \log_{10}$ UFC/g na média entre os 39, 42 e 45 dias de idade em comparação ao grupo controle ($p \leq 0,05$) (Figura 4). Finalmente, os fagos não foram detec- tados em frangos negativos para salmonelas após 24 h da sua administração oral (Fiorentin et al., 2004), revelando a rápida eliminação na ausência da bactéria-alvo e reforçando a segurança para o hospedeiro.

Tabela 3. Quantificação (média \pm erro padrão) de *Salmonella Heidelberg* (\log_{10} UFC/g) no conteúdo cecal de frangos antes (33 dias) e após (40 dias) tratamento com bacteriófagos líticos.

Período	Controle (não tratado)	Tratado com fagos	Prob>F
Antes do tratamento	6,691 ($\pm 0,527$)	4,476 ($\pm 1,090$)	0,1322
Após o tratamento	5,931 ($\pm 0,356$)	3,306 ($\pm 0,817$)	0,0069

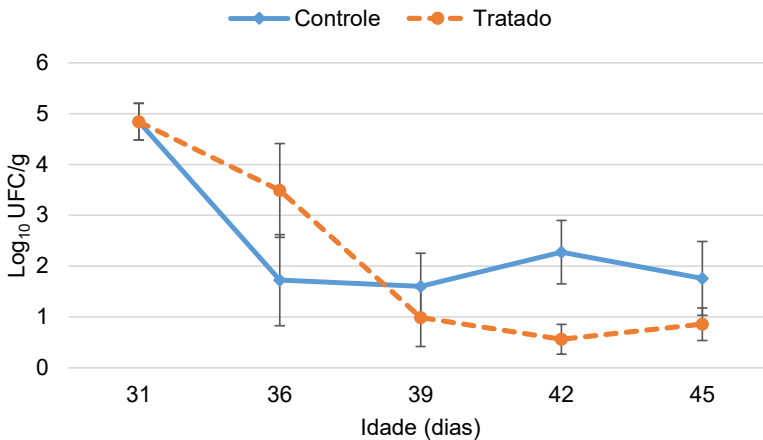


Figura 4. Redução de *Salmonella* Enteritidis no conteúdo cecal de frangos tratados com bacteriófagos. Os pintos de 1 dia foram infectados com 10^6 UFC de *S. Enteritidis*. O tratamento com o coquetel de fagos (BRM 13312, BRM 13313 e BRM 13314) foi administrado via água de bebida, na dose de $6,8 \times 10^{10}$ UFP de fagos/ave/dia, dos 31 aos 36 dias de idade.

Em se tratando de um insumo biológico, a dose necessária para alcançar o sítio de atuação *in vivo* em concentração suficiente para reduzir significativamente a população da bactéria-alvo não é facilmente predita, já que sofre interferência de fatores naturais. Por essa razão, o desempenho a campo de produtos com fagos pode ser diferente do alcançado em ambientes controlados. Notadamente, uma concentração mínima da bactéria-alvo é necessária para possibilitar a adsorção e replicação do fago *in vivo*. Nesse sentido, outras práticas de manejo que reduzem a população bacteriana nas aves, como vacinação e uso de aditivos alimentares, podem interferir na fagoterapia (Tsonos et al., 2014). Como estruturas não próprias, bacteriófagos podem induzir resposta imunológica do hospedeiro. Dependendo da via de administração, essa resposta resulta em desenvolvimento de imunidade ativa ou tolerância. Todavia, o efeito da fagoterapia oral não tem sido considerado dependente do desenvolvimento de anticorpos contra bacteriófagos (Colavecchio; Goodridge, 2017; Żbikowska et al., 2020).

Considerando a via de administração, os principais problemas relacionados ao fornecimento dos fagos via água são: a baixa estabilidade das partículas virais frente à acidez do proventrículo e moela, o que afeta a dose que atinge efetivamente o trato intestinal onde se encontram as bactérias-alvo; e o curto tempo de permanência dos fagos no sítio de ação devido à alta motilidade intestinal (Jończyk et al., 2011; Bardina et al., 2012). Logo, no sentido de garantir o uso adequado dos fagos, a formulação precisa garantir a estabilidade dos fagos tanto no produto final quanto após a sua administração oral. Diversas estratégias têm sido investigadas no delineamento de formulações contendo fagos visando maior estabilidade no meio ácido, como a utilização de antiácidos (Atterbury et al., 2007), bem como a encapsulação com polímeros, seja para proteção contra anticorpos circulantes e fluidos gastrointestinais ou para aumentar o tempo de permanência no intestino (Bardina et al., 2012; Dini et al., 2012; Colavecchio; Goodridge, 2017). Contudo, até o presente momento, não há relatos de uma formulação que atue eficientemente tanto contra a acidez quanto aumentando a permanência no intestino.

Considerações finais

Insumos biológicos à base de bacteriófagos líticos não representam uma inovação na indústria de saúde e alimentação animal, já que sua ação bactericida é conhecida há muito tempo, porém menos atrativa em relação à facilidade ofertada pelos antimicrobianos. Entretanto, uma vez desenvolvidas formulações escalonáveis, que otimizem seu efeito *in vivo*, a fagoterapia apresenta-se como possibilidade de diversificação das estratégias de controle de salmonelas aviárias. O aprimoramento de insumos alternativos está alinhado à necessidade do setor de proteína animal em reduzir o volume de antimicrobianos usados na produção e à busca pela inocuidade dos alimentos. Nesse contexto, fagos líticos nativos são interessantes para o desenvolvimento de produtos voltados ao mercado nacional por não introduzirem cepas exóticas na biodiversidade brasileira e apresentarem maior probabilidade de ação frente a estirpes de campo locais. Em outros países, uma gama de aditivos alimentares à base de fagos foi desenvolvida para controle de bactérias aviárias, principalmente relacionadas à segurança dos alimentos (Żbikowska

et al., 2020), cujo licenciamento e registro para comercialização depende de critérios específicos de cada país. No caso do Brasil, essa categoria segue o fluxo definido pelo MAPA para o setor regulado no que diz respeito à aprovação da matéria-prima e registro do produto como aditivo zootécnico.

Referências bibliográficas

ATTERBURY, R. J.; VAN BERGEN, M. A. P.; ORTIZ, F.; LOVELL, M. A.; HARRIS, J.A.; DE BOER, A.; WAGENAAR, J. A.; ALLEN, V. M.; BARROW, P. A. Bacteriophage therapy to reduce *Salmonella* colonization of broiler chickens. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, p. 4543-4549, 2007.

BARDINA, C.; SPRICIGO, D. A.; CORTÉS, P.; LLAGOSTERA, M. Significance of the bacteriophage treatment schedule in reducing *Salmonella* colonization of poultry. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 78, p. 6600–6607, 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Plano de Ação Nacional para Prevenção e Controle da Resistência aos Antimicrobianos no âmbito da agropecuária (PAN-BR Agro). 2018. Disponível em: [www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/resistencia-aos-antimicrobianos/pan-br-agro]. Acesso em: 25 maio 2022.

COLAVECCHIO, A.; GOODRIDGE, L. D. Phage therapy approaches to reducing pathogen persistence and transmission in animal production environments: Opportunities and challenges. **Microbiology Spectrum**, v. 5, PFS-0017-2017, 2017.

DINI, C.; ISLAN, G. A.; DE URRAZA, P. J.; CASTRO, G. R. Novel biopolymer matrices for microencapsulation of phages: enhanced protection against acidity and protease activity. **Macromolecular Bioscience**, v. 12, p. 1200-1208, 2012.

FIorentin, L.; VIEIRA, N. D.; BARROS, S. Bacteriófagos líticos para salmonelas. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2002. (Comunicado Técnico, 304). Disponível em: [www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/961109/bacteriofagos-liticos-para-salmonelas]. Acesso em: 25 maio 2022.

FIorentin, L.; VIEIRA, N. D.; BARIoni JUNIOR, W.; BARROS, S. *In-vitro* characterization and in vivo properties of *Salmonellae* lytic bacteriophages isolated from free-range layers. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 6, p. 121-128, 2004.

JEE, Y.; CARLSON, J.; RAFAI, E.; MUSONDA, K.; HUONG, T. T. G.; DAZA, P.; SATTAYAWUTHIPONG, W.; YOON, T. Antimicrobial resistance: a threat to global health. **Lancet Infectious Diseases**, v. 18, p. 939-940, 2018.

JOŃCZYK, E.; KŁAK, M.; MIĘDZYBRODZKI, R.; GÓRSKI, A. The influence of external factors on bacteriophages - review. **Folia Microbiologica** (Praha), v. 56, p. 191-200, 2011.

LARSEN, J.; RAISEN, C. L.; BA, X.; SADGROVE, N. J.; PADILLA-GONZÁLEZ, G. F.; SIMMONDS., M. S. J.; et al. Emergence of methicillin resistance predates the clinical use of antibiotics. **Nature**, v. 602, p. 135-141, 2022.

LEKSHMI, M.; AMMINI, P.; KUMAR, S.; VARELA, M. F. The food production environment and the development of antimicrobial resistance in human pathogens of animal origin. **Microorganisms**, v. 5, p. 1-15, 2017.

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

MEHDI, Y.; LETOURNEAU-MONTMINY, M. P.; GAUCHER, M. L.; CHORFI, Y.; SURESH, G.; ROUISSI, T.; BRAR, S. K.; CÔTÉ, C.; RAMIREZ, A. A.; GODBOUT, S. Use of antibiotics in broiler production: global impacts and alternatives. **Animal Nutrition**, v. 4, p. 170-178, 2018.

SINDICATO NACIONAL DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA SAÚDE ANIMAL (SINDAN). 2022. Mercado de saúde animal 2020. Disponível em [<https://sindan.org.br/mercado/>]. Acesso em: 25 maio 2022.

TSONOS, J.; VANDENHEUVEL, D.; BRIERS, Y.; DE GREVE, H.; HERNALSTEENS, J. P.; LAVIGNE, R. Hurdles in bacteriophage therapy: Deconstructing the parameters. **Veterinary Microbiology**, p. 171, p. 460-469, 2014.

VAZ, C. S. L.; VOSS-RECH, D.; ALVES, L.; COLDEBELLA, A.; BRENTANO, L.; TREVISOL, I. M. Effect of time of therapy with wild-type lytic bacteriophages on the reduction of *Salmonella* Enteritidis in broiler chickens. **Veterinary Microbiology**, v. 240, 108527, 2020.

WANG, C.; NIE, T.; LIN, F.; CONNERTON, I. F.; LU, Z.; ZHOU, S.; HANG, H. Resistance mechanisms adopted by a *Salmonella* Typhimurium mutant against bacteriophage. **Virus Research**, v. 273, 1977592019, 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Global Plan on Antimicrobial Resistance. 2015. Disponível em: [www.who.int/publications/i/item/9789241509763]. Acesso em: 25 maio 2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Critically important antimicrobials for human medicine, 6th revision. 2018. Disponível em: [www.who.int/publications/i/item/9789241515528]. Acesso: 25 maio 2022.

WORLD ORGANIZATION FOR ANIMAL HEALTH (WOAH-OIE). OIE list of antimicrobial agents of veterinary importance. 2019. Disponível em: [www.oie.int/en/document/a_oie_list_antimicrobials_june2019/]. Acesso em: 25 maio 2022.

WRIGHT, G. D. The antibiotic resistome: the nexus of chemical and genetic diversity. **Nature Reviews Microbiology**, v. 5, p. 175-186, 2007.

ŻBIKOWSKA, K.; MICHALCZUK, M.; DOLKA, B. The use of bacteriophages in the poultry industry. **Animals** (Basel), v. 10, p. 872, 2020.

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:

Embrapa Suínos e Aves

Rodovia BR 153 - KM 110
Caixa Postal 321
89.715-899, Concórdia, SC
Fone: (49) 3441 0400
Fax: (49) 3441 0497
www.embrapa.br

www.embrapa.br/fale-conosco/sac

1ª edição

Versão eletrônica (2022)



Comitê Local de Publicações da Embrapa Suínos e Aves

Presidente

Franco Muller Martins

Secretária-Executiva

Tânia Maria Biavatti Celant

Membros

Clarissa Silveira Luiz Vaz, Cláudia Antunez Arrieche, Gerson Neudi Scheuermann, Jane de Oliveira Peixoto, Monalisa Leal Pereira e Rodrigo da Silveira Nicoloso

Supervisão editorial

Tânia Maria Biavatti Celant

Revisão técnica

Jalusa Deon Kich e Luizinho Caron

Revisão de texto

Jean Carlos Porto Vilas Boas Souza

Normalização bibliográfica

Claudia Antunez Arrieche

Projeto gráfico da coleção

Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica

Vivian Fracasso

Ilustração da capa

Vivian Fracasso