

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE GENÉTICA E BIOQUÍMICA
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

Caracterização do perfil de resistência antimicrobiana de *Salmonella* spp
isoladas durante o abate de rês-touro (*Lithobates catesbeianus*) na região do
Triângulo-mineiro

Luiz Felipe Dias dos Santos Costa

Monografia apresentada à Coordenação do
Curso de Biotecnologia, da Universidade
Federal de Uberlândia, para obtenção do grau
de Bacharel em Biotecnologia.

Uberlândia - MG

Dezembro – 2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

INSTITUTO DE GENÉTICA E BIOQUÍMICA

CURSO DE BIOTECNOLOGIA

Caracterização do perfil de resistência antimicrobiana de *Salmonella* spp
isoladas durante o abate de rãs-touro (*Lithobates catesbeianus*) na região do
Triângulo-mineiro

Luiz Felipe Dias dos Santos Costa

Professor Doutor Marcus Vinícius Coutinho Cossi

Monografia apresentada à Coordenação do
Curso de Biotecnologia, da Universidade
Federal de Uberlândia, para obtenção do grau
de Bacharel em Biotecnologia.

Uberlândia - MG

Dezembro – 2017

Luiz Felipe Dias dos Santos Costa

Caracterização do perfil de resistência antimicrobiana de *Salmonella* spp
isoladas durante o abate de rãs-touro (*Lithobates catesbeianus*) na região do
Triângulo-mineiro

Luiz Felipe Dias dos Santos Costa

Professor Doutor Marcus Vinicius Coutinho Cossi

Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia

Homologado pela coordenação do
Curso de Biotecnologia em __/__/__

Professor Doutor Edgar Silveira Campos

Uberlândia - MG

Dezembro - 2017

RESUMO

Atualmente, tem-se que um dos grandes problemas da população mundial é a contaminação por microrganismos patogênicos, que causam dificuldades nos sistemas de saúde pública e na economia do país. Além disso, as cepas têm se tornado mais resistentes devido a diversos fatores, tal como o uso incorreto de antibióticos. O presente estudo visou identificar cepas de *Salmonella* spp. em diferentes pontos do abate da rã-touro (*Lithobates catesbeianus*) no abatedouro localizado na fazenda experimental do Glória, de posse da Universidade Federal de Uberlândia (UFU). Os pontos selecionados foram após a insensibilização (A), após a esfolagem (B), após a evisceração (C) e antes da embalagem (D). As amostras coletadas foram submetidas ao protocolo de identificação de *Salmonella* spp de acordo com a ISO 6579 e confirmados por PCR utilizando o gene *ompC*. Nove isolados puderam ser confirmados nos diferentes pontos e testados quanto à resistência antimicrobiana em 10 antimicrobianos diferentes, sendo encontrada uma capacidade de resistir a Ampicilina (89% das cepas), Eritromicina (89%), Cefalexina (56%), Ciprofloxacina (33%), Cefotaxima (22%), Ceftriaxona (11%), assim como Azitromicina e Neomicina, além do fato de todas as amostras serem sensíveis a Meropenem e Tobramicina. Feito isso, foi traçado o perfil de resistência destas amostras e percebeu-se que não houve um padrão definido de susceptibilidade, uma vez que as cepas responderam de maneira diferentes a cada antimicrobiano, existindo somente um perfil no qual duas amostras se encaixaram (Perfil H), o que pode ser consequência da coleta de diversos sorotipos de *Salmonella*. Os resultados indicam presença de *Salmonella* na linha de abate de rã-touro e existência de diferentes padrões de resistência e multirresistência em uma mesma classe de bactéria, o que pode ser problemático para o tratamento das doenças causadas por ela, uma vez que a *Salmonella* é um importante patógeno causador de doenças transmitidas por alimentos (DTA).

Palavras-chave: Antimicrobiano; Multirresistência; Saúde pública; Sorotipos de *Salmonella*; Uberlândia;

ABSTRACT

One of the great problems of the world population today is the contamination by pathogenic microorganisms that cause problems in the public health systems and the economy of the country. In addition, strains have become increasingly resistant due to several factors, such as the misuse of antibiotics. The present study aimed to identify strains of *Salmonella* spp. collected from bullfrog (*Lithobates catesbeianus*) at the slaughterhouse located at the experimental farm of Glória, owned by the Federal University of Uberlândia (UFU). The selected spots were after the desensitization (A), after skinning (B), after evisceration (C) and before packing (D). The collected samples were submitted to the identification protocol of *Salmonella* spp according to ISO 6579 and confirmed by PCR using the ompC gene. A total of 9 isolates could be confirmed at different sites and tested for antimicrobial resistance in 10 different antimicrobials, and found an ability to resist Ampicillin (89% of strains), Erythromycin (89%), Cephalexin (56%), Ciprofloxacin (33%), Cefotaxime (22%), Ceftriaxone (11%), Azithromycin and Neomycin, and the fact that all samples were sensitive to Meropenem and Tobramycin. The resistance profile of these samples was drawn and it was noticed that there was no defined pattern of susceptibility, since the strains responded differently to each antimicrobial, there being only one profile in which two samples fit (Profile H), which may be a consequence of the collection of several *Salmonella* serotypes. The results indicate the presence of *Salmonella* in the bullfrog slaughter line and the existence of different resistance patterns and multiresistance in the same class of bacteria, which may be problematic for the treatment of the diseases caused by her, since *Salmonella* is an important pathogen that causes foodborne illness.

Keywords: Antimicrobial; Multiresistance; Public health; *Salmonella* serotypes; Uberlândia.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	1
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
1.1. Ranicultura e produção de carne de rã.....	3
1.2. Abate de rã.....	4
1.3. <i>Salmonella</i> e os alimentos.....	6
1.4. Resistência antimicrobiana associados com <i>Salmonella</i> spp.....	8
2. MATERIAL E MÉTODOS	10
2.1. Definição do local de coleta	10
2.2. Coleta de amostra na linha de abate e processamento.....	10
2.3. Identificação de <i>Salmonella</i> spp.....	10
2.4. Resistência a antimicrobianos.....	12
2.5. Análise dos resultados.....	12
3. RESULTADOS.....	13
4. DISCUSSÃO.....	15
REFERÊNCIAS.....	20

1. INTRODUÇÃO

Os alimentos de origem vegetal ou animal estão propícios à contaminação por diversos microrganismos que podem ou não ser patogênicos aos seres humanos que os consomem. Aqueles que estão realmente contaminados se tornam um potencial risco ao consumidor, podendo causar doenças com variável grau de severidade (MS, 2016).

O termo doença transmitida por alimentos (DTA) é assim chamado por ser advindo de infecções causadas pela ingestão de alimentos contaminados por substâncias químicas ou microrganismos como bactérias, fungos, vírus, além de parasitas, entre outros, que são patogênicos aos seres humanos. Por esta razão, é considerada um problema de saúde coletiva e com potencial impacto econômico em um país (OLIVEIRA, 2015).

Os indivíduos que contraem alguma doença de origem alimentar, pelo fato de a maioria das vezes serem sintomas brandos, decidem não consultar o profissional da saúde e isso acaba por não ser registrado pelo órgão governamental responsável por este controle (LANZA, 2017) e mesmo com a consulta do médico o problema não é sanado. Por este motivo, o perfil epidemiológico brasileiro não é muito conhecido, estando em grande parte os dados dependentes da região e estado do Brasil. As informações atuais disponíveis mostram que os surtos com agentes etiológicos como *Salmonella* spp., *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* são os mais frequentes (MS, 2017).

Dentre os alimentos frequentemente envolvidos com os surtos de origem alimentar estão as carnes de diversas origens, incluindo a de rã, que possui um grande valor nutritivo, boa digestibilidade, ótima aceitação quanto a palatabilidade, podendo facilmente ser uma alternativa a substituir aquelas que já estão inseridas na alimentação da população como a de frango e bovina. Esta carne, assim como todas as outras, está sujeita a diversas fontes de contaminação ao longo de sua cadeia produtiva, sendo necessário para seu controle a adoção de ferramentas como, Boas Práticas de Fabricação (BPF) e Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), que podem mitigar os riscos de contaminação do produto (SAMULAK et al., 2011).

Dentre os principais problemas em relação às DTAs estão aqueles causados por bactérias, dentre elas as do gênero *Salmonella* spp., sendo esta doença conhecida como salmonelose. Este microrganismo está presente na microbiota intestinal dos animais, por

isso é tão frequente a contaminação dos produtos de origem animal e o contágio de indivíduos por ele (MS, 2011).

Além do problema relacionado exclusivamente com a presença de patógenos nos alimentos, devido à grande frequência da automedicação com antibióticos existente na população e uso nas produções animais, os microrganismos, vem desenvolvendo elevada resistência aos antimicrobianos (BAHNSON; FEDORKA-CRAY, 1999). Isso resulta em um grande problema, uma vez que os medicamentos existentes deixam de ter o efeito desejado nas cepas adaptadas a resistir aos mecanismos dos mesmos, causando doenças sem métodos eficazes de tratamento.

O presente trabalho visou identificar os perfis de resistência das amostras de *Salmonella* spp., isoladas do abatedouro de rãs da Universidade Federal de Uberlândia, em Uberlândia, nos diversos pontos de processamento da carcaça, tendo em vista que esta espécie de bactéria é uma das maiores causadoras de zoonoses graves registradas em todo mundo, sendo de grande importância na saúde coletiva.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1. Ranicultura e produção de carne de rã

A ranicultura no Brasil teve início na década de 30 com a espécie *Rana catesbeiana* (rã-touro americana), única espécie utilizadas pelos ranários, uma vez que ela se adaptou perfeitamente às condições climáticas do país. Segundo dados da literatura, em 1935 foi fundado o primeiro ranário comercial no Brasil, chamado Ranário Aurora, no município de Itaguaí, Rio de Janeiro (CRIBB et al., 2013).

Os tanques de criação e alimentação das rãs eram chamados de tanques múltiplos, oferecendo-se diversos tipos de alimentos, principalmente insetos atraídos por carcaças em decomposição, porém esta técnica fazia com que o local ficasse com o aspecto e cheiro desagradáveis (FERREIRA; PIMENTA; PAIVA NETO, 2002). Com o aperfeiçoamento da ranicultura no Brasil começaram os sistemas de engorda nomeados de tanque-ilha, confinamento, anfigranja, gaiolas, ranabox, climatizado e inundado, sendo que um apanhado das melhores características de vários desses é chamado de sistemas híbridos (FERREIRA et al., 2002).

De sua implementação até a atualidade a ranicultura brasileira passou por oscilações como o número de produtores e alternância de tecnologias de criação. Os últimos dados existentes são de 2002 e dizem que o Brasil contava com aproximadamente 600 ranários comerciais, 15 indústrias de abate e processamento, 4 cooperativas, 6 associações estaduais e uma associação de pesquisadores, nomeada de Associação Brasileira de Estudos Técnicos em Ranicultura (ABETRA) (FERREIRA; PIMENTA; PAIVA NETO, 2002).

Apesar de não ter sido atualizada, a produção brasileira por último estimada girava em torno de 400 toneladas/ano sendo praticamente toda absorvida pelo mercado interno, consumidas pela camada de maior renda no país e vendida como carne exótica nos restaurantes (FERREIRA; PIMENTA; PAIVA NETO, 2002). Considerando o cenário atual de produção e consumo do produto é possível notar que há condições de expansão para o mercado, mas para isso seriam necessárias várias melhorias nessa área.

O consumo da carne de rã no mundo é muito vasto sendo principalmente consumida na Ásia (Tailândia, China, Indonésia), na Europa (Espanha, Eslovênia, Croácia) e nas Américas (Estados Unidos, Brasil, México) (COSTA, 2013). A principal motivação para seu consumo são as características nutricionais e o paladar próximo ao da carne de frango

(NEGRINI, 2001). No Brasil o consumo desse produto não é elevado e o objetivo primordial ainda é facilitar o acesso da população à esta carne exótica (CARRARO, 2008). Anualmente no mundo consomem-se aproximadamente 3,2 bilhões de cabeças de rã (COSTA, 2013). A carne de rã-touro possui um ótimo teor proteico, todos aminoácidos essenciais, baixo teor de sódio, lipídeos e calorias, paladar suave, todos ácidos graxos necessários, boa digestibilidade, sendo recomendada especialmente para crianças e para pessoas em recuperação (LIMA & AGOSTINHO, 1988). Devido a essas características esta carne é um produto nobre capaz de agregar qualidade de vida aos consumidores, havendo, portanto, justificativas para o maior desenvolvimento da atividade afim de torná-la cada vez mais viável (CARRARO, 2008).

No Brasil, há a necessidade de melhoria em toda cadeia produtiva das rãs inclusive para maior aceitação deste animal na alimentação da população (CRIBB; AFONSO; MOSTÉRIO, 2013). Dentre as vantagens da produção dessa espécie estão as características zootécnicas relacionadas a precocidade e prolificidade, sendo que o casal pode gerar 20.000 descendentes por cópula, atingindo seu peso de abate em seis meses. Além disso, é observado um baixo índice de mortalidade, apresentando resistência aos diferentes tipos de manejos adotados (CRIBB; AFONSO; MOSTÉRIO, 2013). Por outro lado, há também suas desvantagens como a climatização, pois as rãs são dependentes do clima para sua reprodução, sendo que no inverno esta condição é muito dificultada, sofrem também interferência pelo canibalismo, além de que nos sistemas abertos podem aparecer predadores como gatos e pássaros (FERREIRA, 2004).

1.2. Abate de rã

É definido como “pescado”, os peixes, crustáceos, moluscos, anfíbios, répteis, equinodermos e demais animais aquáticos utilizados na alimentação humana segundo o artigo 205 do Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) (BRASIL, 2017).

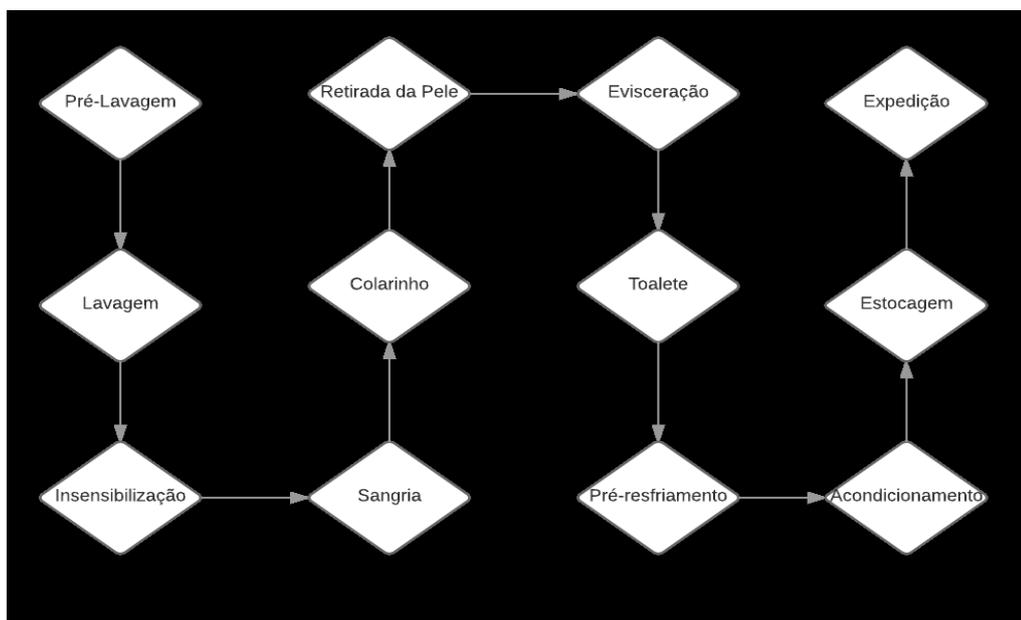
O abatedouro de rã, apesar de não possuir legislação específica, é composto por diferentes áreas, sendo estas bastante semelhantes aquelas de animais de açougue considerados mais tradicionais como bovinos e suínos. Após feita a inspeção *ante mortem* na recepção desses animais é feito um jejum de 24 horas no mínimo e dieta hídrica que visa a recuperação do estresse de transporte e esvaziamento do intestino (CRIBB;

AFONSO; MOSTÉRIO, 2013). Após este período os animais prosseguem para o abate, que segue geralmente a sequência do Fluxograma 1.

Dentre as etapas destacam-se a insensibilização (termonarcole ou eletronarcole), sangria, esfola (etapa que divide a área suja da limpa), evisceração, toalete, embalagem, congelamento, estocagem e expedição (CRIBB; AFONSO; MOSTÉRIO, 2013).

Fluxograma 1: Fluxograma do abate de rãs

Fonte: Lima et al. (2000)



A maioria dos abatedouros de rã trabalha de forma precária, sem muito profissionalismo e padrão de qualidade, por isso existem deficiências que devem ser resolvidas, para que a carne não tenha sua qualidade comprometida (CRIBB et al., 2013). Muitos estados brasileiros possuem estabelecimentos de abate de rãs fiscalizados pelo Serviço de Inspeção tanto Federal (SIF) quanto Estadual (SIE) e também Municipal (SIM). Alternativas para redução do custo de abate e aumentar os lucros têm sido desenvolvidas, com o apoio a novos estudos para a criação de novos produtos, principalmente utilizando os coprodutos do abate (MELLO et al., 2006).

Para se obter uma melhor qualidade, limpeza e higiene durante o processamento e obtenção do produto final, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) impõe diretrizes e normas para o abate dos animais que podem ser extrapolados para a obtenção da carne de rã (BRASIL, 2017; BRASIL 1997).

A contaminação do animal pode ocorrer em qualquer ponto durante o abate, armazenamento e distribuição, dependendo principalmente das medidas preventivas adotadas (ROÇA, 2004). Na evisceração por exemplo, deve ser tomado um cuidado maior por ser uma etapa com alto risco de contaminação da carcaça por material fecal, um perigo relacionado à qualidade microbiológica do alimento (PINHEIRO; SARTORI; RIBEIRO, 2016). A contaminação cruzada também pode ocorrer ao manipular o alimento cru com os utensílios de cozinha do consumidor ou de abate da própria empresa (CAVALHEIRI et al., 2016).

Medidas preventivas devem ser adotadas em todas fases da cadeia produtiva do alimento em questão, desde a alimentação do animal, para evitar a contaminação do mesmo com microrganismos; no aumento da higiene durante o abate; e posteriormente, no processamento da carne (FERREIRA, 2007). A educação dos manipuladores na indústria e do consumidor na preparação final do produto também devem ser observadas para a adoção das medidas ideais de higiene (FERREIRA, 2007).

Os microrganismos relacionados a zoonoses são encontrados na maioria das vezes na microbiota intestinal dos animais, podendo estar presente nas fezes de animais domésticos, por exemplo (RIBAS; POONLAPHDECHA, 2016). Anfíbios podem transmitir essas doenças, incluindo as salmoneloses, causadas por espécies de *Salmonella* spp., que são assintomáticas nestes animais, mas podem ser causadoras de doenças nos seres humanos (ALFANI, 2007).

1.3. *Salmonella* e os alimentos

Atualmente a ocorrência de zoonoses na população humana transmitida por alimentos é subestimada, pois normalmente os quadros de gastroenterite não necessitam de hospitalização, logo o agente agressor não é identificado (SHINOHARA et al., 2008). Portanto, pequena parte dos surtos de origem alimentar no Brasil são registrados, devido a problemas no sistema de fiscalização e notificação (SHINOHARA et al., 2008), uma vez que depende principalmente da comunicação dos consumidores, do relato dos médicos e das atividades de vigilância sanitária das secretarias municipais e estaduais de saúde (LANZA, 2017).

Segundo dados oficiais do Ministério da Saúde têm-se registrado uma diminuição anual dos números de doentes e surtos por doenças transmitidas por alimentos (DTAs)

(MS, 2017). Mesmo assim, nas regiões Sudeste e Nordeste do Brasil são onde estão registrados a maior parte das doenças parasitárias, infecciosas e do aparelho digestivo, sendo esses problemas responsáveis por aproximadamente 9% dos casos de morte no país (MS, 2017).

Dentre os principais microrganismos envolvidos nas DTAs está *Salmonella* spp., que pertence à família *Enterobacteriaceae*, existindo aproximadamente 2500 sorotipos, sendo mais de 80 deles de importância para a saúde pública (PENHA, 2008). Este gênero é responsável por aproximadamente 27% das infecções causadas por bactérias (95% do total) (MS, 2017).

Grande parte dos surtos de origem alimentar que ocorrem o agente agressor não é identificado, uma vez que os patógenos podem ser muitos e na maioria das vezes os sintomas são brandos e auto limitantes, não sendo necessária a consulta médica para avaliação adequada (MS, 2017). Existem diversos sorovares de *Salmonella* spp., a maioria delas gera problemas brandos como diarreia, náuseas e vômitos, porém existem outros tipos que são um risco maior à saúde pública como *S. Typhy* e *S. Parathyphy*, que causam a febre tifoide e paratifoide (NEITZKE; ROZA; WEBER, 2017).

Ainda, deve-se ressaltar que a maioria dos sorotipos de *Salmonella* spp. são patogênicos ao homem, tendo diferenças nos sintomas de acordo com a condição de saúde do hospedeiro e mecanismo de patogenicidade (SHINOHARA et al., 2008). Com isso, a salmonelose é um dos principais problemas de saúde pública em todo mundo, basicamente pelas suas características de alta morbidade e dificuldade de encontrar medidas para seu controle (MS, 2011). Os custos mundiais para regulação deste problema são muito altos, por isso devem-se estabelecer controles sanitários cada vez mais rigorosos para evitar grandes prejuízos e dificuldades no controle da saúde da população (SHINOHARA et al., 2008).

Uma vasta variedade de alimentos pode conter cepas de *Salmonella* spp., na maioria das vezes naqueles de origem animal, como a carne bovina, de aves principalmente, ovos e também os pescados (PROENZA et al., 2014). A contaminação ocorre principalmente pelo controle inadequado da temperatura, pela manipulação incorreta do produto e também por contaminação cruzada entre produtos crus e processados (SHINOHARA et al., 2008). De acordo com o Centro de Controle de Doenças (CDC) nos Estados Unidos ocorrem aproximadamente 19.000 casos de hospitalizações por causa de infecção por *Salmonella* spp. (CDC, 2015), sendo 90% destes de origem alimentar.

As rãs são reservatórios naturais da *Salmonella* spp., por isso desempenham um papel importante na epidemiologia da salmonelose (RIBAS; POONLAPHDECHA, 2016). Esta bactéria é facilmente destruída quando exposta a uma temperatura acima de 66°C por 15 minutos, porém o consumo da carne de rã geralmente é feita ao ponto ou mal passada, para que a suculência não seja perdida (MIRAGAIA, 2015), o que facilita a prevalência desses microrganismos.

A carne de rã não for bem processada e preparada antes do consumo pode causar graves problemas ao consumidor (ANDREWZ et al., 1977). Sendo um pescado, o processo de salga, que consiste na adição de sal, do produto auxilia na diminuição da atividade de água e conseqüente redução da velocidade de decomposição e crescimento de microrganismos no produto, aumentando seu tempo de prateleira (MINOZZO, 2011).

Além da preocupação relacionada com a presença do microrganismo nos alimentos de origem animal, têm aumentado também a preocupação com a resistência desta bactéria a diferentes antimicrobianos (OMS, 2014).

1.4. Resistência antimicrobiana associados com *Salmonella* spp

Um dos grandes problemas que ocorrem atualmente no mundo é a resistência à antimicrobianos adquirida pelos microrganismos, devido ao uso não prescrito de medicamentos pela população e pelos diversos setores da produção animal. Essa utilização tem contribuído para a seleção de cepas mais resistentes que passam a se multiplicar e descender suas características (BIERNATH, 2017). No caso da *Salmonella* spp. não é diferente e uma vez que é comum a contaminação da população por esse tipo de bactéria patogênica, a atenção deve ser ainda maior (AARESTRUP, 1999).

Resistência bacteriana é a característica da bactéria de evitar que ela seja destruída por antibióticos. Muitas pesquisas têm focado na resistência da *Salmonella* de diferentes sorovares, vindas de diversas origens e a suscetibilidade dessas bactérias aos antibióticos têm diminuído a cada década (BEGUM; MANNAN; AHMED, 2016)

Para que seja considerada como uma multirresistência é necessário que o microrganismo seja resistente a 3 ou mais classes destes medicamentos, que agem em alvos celulares diferentes (SHRESTHA et al., 2017). Sorovares como *S. Enteritidis* (CARDOSO et al., 2002), *S. Thyphimurium* (RIBOT et al., 2002) e também *S. Hadar* (CRUCHAGA et al., 2001) têm sido ainda identificados como multirresistentes à antimicrobianos, um problema ainda maior para a saúde pública.

Apesar de não haver trabalhos específicos sobre o abate da rã, um estudo feito com frangos utilizando 22 isolados da bactéria *S. Hadar*, no estado do Rio Grande do Sul, 100% das cepas se demonstraram resistentes a mais de um antibiótico como estreptomicina, tetraciclina e sulfazotrim (RIBEIRO et al. 2006). A *Salmonella* spp. como já citado antes é a causadora da salmonelose, que possui sintomas brandos na maioria dos casos, porém em um grupo de pessoas mais susceptíveis (idosos, crianças e suprimidos imunologicamente) os sintomas podem ser tão severos que se não tratados com o método correto levam o paciente ao óbito (KEMPF; HULSEBUS; AKBAR, 2016).

Todo ano nos Estados Unidos a *Salmonella* causa em média 1,2 milhões de doenças, 23.000 hospitalizações e 450 mortes. Percebe-se por estudos que a resistência clinicamente importante está relacionada com sorotipos específicos da bactéria como *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* e *S. Heidelberg* (MEDALLA et al., 2017).

Um estudo feito em Lages (Santa Catarina) com isolados de *Salmonella* spp. em linguiça fresca suína demonstrou que de todas as amostras (60) 12 delas (20%) apresentaram multirresistência, sendo resistente a 4 ou mais antibióticos testados (SPRICIGO et al., 2008). Um pouco antes, Castagna (2004) encontrou índices mais elevados, ou seja, 27,6% das bactérias testadas eram multirresistentes, isoladas de massa para embutidos.

Segundo a CDC diversos surtos causados por DTA são relatados em todo o mundo, como nos Estados Unidos onde uma contaminação por *Salmonella heidelberg* deixou aproximadamente 130 pessoas enfermas em 32 estados diferentes. Estas cepas eram resistentes a vários antibióticos, com isso métodos alternativos de tratamento tiveram que ser usados (BUSH et al., 2011).

O uso indiscriminado destes antimicrobianos pode resultar em uma resistência múltipla dessas cepas de *Salmonella* spp. pelo seu contato cotidiano com o medicamento, podendo então causar graves infecções nos seres humanos sem a possibilidade de um tratamento eficaz. Por isso, é consenso que a resistência bacteriana tem sido um importante fator no aumento dos índices de mortalidade nos pacientes criticamente doentes (ZIMERMANN et al., 2004).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Definição do local de coleta

Esse estudo foi feito em um abatedouro de rã-touro localizado na fazenda experimental do Glória, de posse da Universidade Federal de Uberlândia. As coletas foram feitas em 30 animais, nas seguintes etapas do abate: após a insensibilização (A), após a esfolagem (B), após evisceração (C), antes da embalagem (D).

2.2. Coleta de amostra na linha de abate e processamento

As amostras foram obtidas pelo método de enxágue de carcaça (CASON et al., 2005, adaptado). Para cada amostra foi utilizado uma sacola contendo 100ml de salina (0,75%) esterilizada. O enxágue foi realizado com o animal na própria linha de abate sendo necessário apenas colocá-lo dentro da sacola esterilizada e em seguida massagear o conjunto (carcaça e salina) por 30 segundos.

Após a coleta, as amostras permaneceram resfriadas em isopor com gelo até a chegada ao Laboratório de Inspeção e Tecnologia de Produtos de Origem Animal da FAMEV-UFU, onde foram processadas.

2.3. Identificação de *Salmonella* spp

O isolamento de *Salmonella* spp. foi realizado no Laboratório de Inspeção e Tecnologia de Produtos de Origem Animal da Faculdade de Medicina Veterinária da UFU, seguindo os padrões internacionais de identificação (ISSO, 2002). Para tanto, 30 ml de cada homogenato foram transferidos para um frasco de vidro contendo 30 ml de salina (0,75%) peptonada 2%, resultando assim em um volume final de 60 ml de salina peptonada à 1% (CASON et al., 2005, adaptado).

Seguindo as recomendações da ISO 6579, o frasco foi então incubado em estufa a 37°C/24 horas (ISO, 2002). Após este período, uma alíquota de 1 mL foi transferida para tubo contendo 10 mL de caldo de enriquecimento seletivo Mueller-Kauffman Tetrationsato (Oxoid) e 0,1 ml para tubo contendo 10 ml de caldo Rappaport Vassiliadis (Oxoid) e os caldos foram incubados a 37°C e 41,5°C por 24 horas respectivamente.

Posteriormente, realizou-se a semeadura em placas de Ágar *Salmonella* Shigella e Ágar XLD (Ágar de desoxicolato-lisina-silose, Oxoid), incubando-as a 37°C/24 horas. As

colônias típicas de *Salmonella* spp. foram submetidas a provas bioquímicas utilizando-se os ágaros LIA (Lisina Iron Agar, Oxoid) e TSI (Triple Sugar Iron - Oxoid), ambos incubados a 37°C/24 horas. As reações típicas de LIA e/ou TSI foram transferidas para tubos com 10 mL de água peptonada 1% (Oxoid) e incubadas em estufa a 37°C por 24h. A etapa final consistiu em retirar os tubos da estufa, transferir 0,7 mL do caldo para eppendorfs (duplicatas) e adicionar 0,3 mL de Glicerol em cada eppendorf, sendo realizado o congelamento da amostra para posterior confirmação por metodologia molecular.

A confirmação dos isolados suspeitos foi feita através de PCR, tendo como alvo o gene *ompC*, responsável pela codificação de oligoproteínas externas da membrana da *Salmonella* e considerado um dos genes mais específicos para identificação e confirmação deste micro-organismo (ALVAREZ et al., 2004; ALMEIDA et al., 2014). A PCR para detecção de *Salmonella* spp. foi feita no Laboratório de Biotecnologia Animal Aplicada da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia.

Para a realização da PCR, colônias suspeitas isoladas na etapa anterior dessa metodologia, foram submetidas a extração e purificação de DNA, utilizando o Kit de purificação Wizard Genomic DNA (Promega Corp., Madison, WI).

O DNA extraído foi então utilizado para a reação de PCR. Foram preparadas reações com volume de 25µL sendo formados por 2µL de DNA da amostra, 12,5µL de GoTaq Green Master Mix (Promega), 8,5µL de água livre de nuclease (Promega) e 1µL de cada primer (gene *ompC*: *ompC*-F 5'-ATCGCTGACTTATGCAATCG-3' e *ompC*-R 5'-CGGGTTGCGTTATAGGTCTG-3') com concentração de 10pmol/µL. As condições utilizadas para a reação foram: 95°C por 2 minutos para desnaturação inicial, 30 ciclos de 95°C por 30 segundos para desnaturação, 57°C por 1 minuto para anelamento, 72°C por 1 minuto para extensão, e após o término destes 30 ciclos, 72°C por 5 minutos para extensão final. Os produtos da PCR foram submetidos à eletroforese horizontal em gel de agarose 1% e posteriormente corados com GelRed (Biotium, Inc., Hayward, CA) e observados em transiluminador. As amostras consideradas positivas para *Salmonella* deveriam alcançar a altura de banda respectiva a 204 pares de base.

2.4. Resistência a antimicrobianos

Os isolados confirmados como *Salmonella* foram submetidos ainda a avaliação de resistência a antimicrobianos. Cada isolado foi reativado em TSB a 37°C até atingir a

turbidade de aproximadamente 0.5 na escala MacFarland. Cada cultura foi espalhada na superfície de uma placa contendo ágar BHI onde discos contendo antimicrobianos posicionadas logo em seguida sobre a mesma placa. Os antimicrobianos testados foram: Azitromicina (AZI), Tobramicina (TOB), Eritromicina (ERI), Ampicilina (AMP), Cefalexina (CFE), Neomicina (NEO), Meropenem (MER), Ciprofloxacina (CIP), Cefotaxima (CTX) e Ceftriaxona (CRO). As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas e a concentração mínima inibitória foi obtida após análise do tamanho do halo de inibição formado ao redor do disco de antimicrobiano. Baseados nesses resultados e seguindo instruções do fabricante e CLSI (2008), os isolados foram classificados como resistentes (parcial foi considerado como total) ou sensíveis ao antimicrobiano.

2.5. Análise dos resultados

A frequência de amostras positivas para *Salmonella* em cada etapa do abate de rã-touro foi comparada por Teste Exato de Fisher pelo programa *GraphPad Prisma 7*, com um nível de significância de 95%. Os isolados foram ainda avaliados quanto aos perfis de resistência a antimicrobianos e classificados como multirresistentes ou não de acordo com Shrestha (2017).

3. RESULTADOS

Dentre as 120 amostras coletadas nos pontos selecionados, 23 apresentaram colônias com características relacionadas à bactéria do gênero *Salmonella* spp. Estas colônias foram testadas através da técnica de PCR (gene *ompC*) e os resultados estão apresentados na tabela 1.

Tabela 1. Frequência de amostras positivas de *Salmonella* spp. isoladas de quatro diferentes etapas do abate de Rã-touro em uma abatedouro-frigorífico do Triângulo Mineiro

Ponto de coleta*	n	n de amostras positivas	Frequência de positividade (%)	Código dos isolados**
A	30	3	10,0	A1/A2/A3/A4
B	30	3	10,0	B1/B2/B3
C	30	2	6,6	C1/C2
D	30	0	0	-
Total	120	8	6,6	

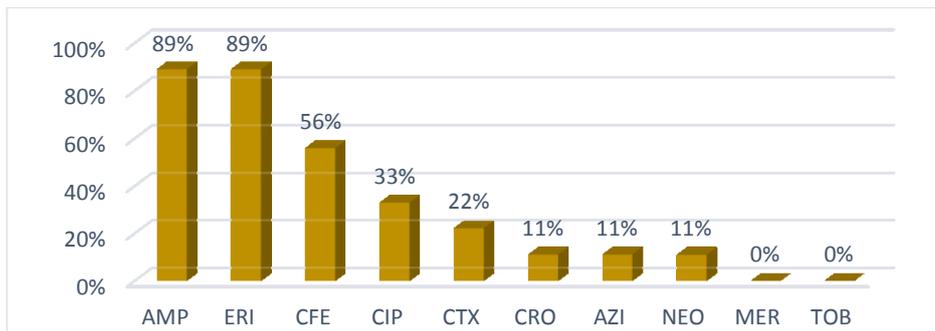
* A- após a insensibilização B- após a esfolagem C- após evisceração D- antes da embalagem;

** A letra indica a etapa do abate em que o isolado foi obtido.

No total foram encontradas 8 (6,6%) amostras positivas para *Salmonella* spp., divididas entre os pontos de coleta e devido à baixa prevalência não foi encontrada diferença entre as etapas ($p > 0,05$). Observa-se que no ponto “D” de coleta não foram encontradas amostras positivas, já nos pontos A e B encontrou-se as maiores positivities (3/30). Uma mesma rã foi positiva em duas etapas do abate (A e B), sendo que 3 isolados foram confirmados nela (A2, A4 e B2).

Cada isolado foi então testado quanto à resistência aos 10 antimicrobianos selecionados. Os resultados dos percentuais de amostras resistentes a cada antimicrobiano estão expostos no Gráfico 1.

Gráfico 1- Frequência de isolados de *Salmonella* spp. resistentes à antimicrobianos obtidos em etapas do abate de rã-touro.



AMP- Ampicilina, ERI- Eritromicina, CFE- cefalexina, CIP- Ciprofloxacina, CTX- Cefotaxima, CRO- Ceftriaxona, AZI- Azitromicina, NEO- Neomicina, MER- Meropenem e TOB- Tobramicina

O resultado de susceptibilidade aos antimicrobianos testados mostra que a Ampicilina e Eritromicina foram aqueles que as amostras se mostraram-se mais resistentes (89%), seguido da Cefalexina (56%). Ainda se percebe que os isolados não apresentaram nenhuma resistência aos compostos Meropenem e Tobramicina.

Após o cálculo da porcentagem de cepas resistentes aos antimicrobianos, foi traçado o padrão de resistência de cada amostra. Feito isso, os isolados foram divididos em perfis semelhantes, com base nos resultados do antibiograma (Tabela 2). Observa-se na tabela que apenas os isolados A4 e B2 apresentaram mesmo perfil (H) de resistência e todos os demais foram classificados como perfis diferentes de resistência, portanto, 8 perfis diferentes (A-H).

Por meio da Tabela 2 ainda pode-se notar que, com exceção dos isolados A3, A4 e B2, todos os demais foram resistentes a três ou mais antimicrobianos, sendo considerados multirresistentes. Os isolados C1 e A2 foram aqueles com maior resistência, ambos resistentes à cinco antimicrobianos. Dos nove isolados, cinco (55,6%) podem ser considerados como multirresistentes.

Tabela 2 – Perfil de resistência à antimicrobianos de isolados de *Salmonella* spp. obtidos em etapas do abate de rã-touro.

Isolados	Antimicrobianos com resistência	Perfil
C1*	AMP/ERI/CRO/CIP/CFE	A
A2*	AMP/ERI/CTX/CFE/CIP	B
C2*	AMP/CTX/CRO/CFE	C
B3	AMP/ERI/AZI	D
A1*	AMP/ERI/CIP	E
B1*	AMP/ERI/CFE	F
A3	ERI/CFE	G
A4 e B2	AMP/ERI	H

*isolados multirresistentes

4. DISCUSSÃO

A presença ou ausência de bactérias no processamento das mais diversas carnes, inclusive de pescados, está diretamente relacionada com a higiene do ambiente, dos funcionários e dos utensílios utilizados (WOLF, 2017). Por isso, além da resistência aos antimicrobianos analisada nos resultados, também foi demonstrada as áreas com maior ocorrência de *Salmonella* spp. durante o processo de abate da rã-touro. A partir dos resultados expostos na Tabela 1 observa-se que as etapas onde houve maior presença de *Salmonella* spp. são aquelas após a insensibilização e após a esfolagem, seguida pela etapa após a evisceração.

A etapa considerada como responsável pela a maior contaminação de carcaças por microrganismos, incluindo *Salmonella* spp., é após a evisceração, pois pode ocorrer o extravasamento do material fecal presente no intestino dos animais, expondo o produto àquelas bactérias que ali estão (SHRESTHA, 2017). Diferentemente do esperado, a presença de *Salmonella* observada no presente estudo sofreu uma redução contínua entre as etapas analisadas (tabela 1). Não somente na linha de abate das rãs, mas de outros

animais é comum a presença de microrganismos, inclusive *Salmonella*, no ambiente de criação e pode acontecer de disseminar às carcaças e ao ambiente (SEIXAS; FERRAZ, 2009). Assim, possivelmente o local onde as rãs estavam alocadas já estava contaminado com o patógeno, justificando a presença do patógeno na pele, e durante a cadeia de processamento as etapas foram bem executadas, contribuindo para a redução da presença deste patógeno.

Por outro lado, a etapa onde se espera haver a menor quantidade de isolados de *Salmonella* spp. é antes da embalagem primária, pois nesta etapa os animais já passaram pela etapa de higienização da carcaça (toailete) (OLIVO; ROSA, 2010). Condizente com o resultado esperado, no presente estudo não foram encontradas cepas do patógeno na etapa pós toailete e imediatamente antes da embalagem primária. Apesar de não existirem trabalhos que avaliam o impacto das etapas do abate da rã-touro na presença de *Salmonella* spp., dados obtidos no abate de outras espécies indicam resultado semelhante e reafirmam a importância da etapa de lavagem da carcaça para a redução da contaminação (COLLA et al., 2014; BONESI; SANTANA, 2008; RUCKERT, 2009), desde que haja um padrão de lavagem e enxágue determinado.

A resistência à antimicrobianos adquirida por bactérias é um dos maiores problemas à saúde pública atualmente (WHO, 2017), principalmente aquelas que conseguem resistir a vários antibióticos. Por isso, a relação entre esta multirresistência, os humanos e o uso destes medicamentos na alimentação dos animais deve ser estudada constantemente (BORGES et al., 2017). O resultado exposto no Gráfico 1 demonstra a porcentagem de cepas resistentes a cada medicamento. O Meropenem por ser um antibiótico de amplo espectro e utilizado em caso de bactérias multirresistentes consegue ser eficiente na maioria das cepas (GALES et al., 2001) e no caso deste estudo não foi diferente, uma vez que ele demonstrou eficácia em todas elas. A Tobramicina que não é comumente utilizada em contaminações causadas por *Salmonella*, por ser usado em caso de infecções oculares (LIMA et al., 2002), conseguiu também ter sua ação bem sucedida no presente trabalho, sendo eficiente em todas as amostras.

Mesmo não havendo trabalhos específicos na literatura sobre resistência de *Salmonella* spp. obtidas no abate de rã-touro, informações encontradas em outras espécies podem ajudar a compreender os resultados do presente trabalho. Um estudo feito em um abatedouro de frangos demonstrou que grande parte das amostras eram resistentes a diversos antimicrobianos, incluindo Ampicilina, da classe das penicilinas, que é comumente utilizado nas produções animais como fator de crescimento (CORTEZ et al.,

2006). Neste estudo conduzido por Cortez et al. (2006), das 29 cepas testadas, 25 (86,2%) demonstraram-se capazes de evitar o mecanismo de ação do antibiótico, enquanto em outro estudo, todas amostras demonstraram-se resistentes à Ampicilina (SHRESTHA, 2017). Com base neste resultado percebe-se que a resistência à Ampicilina no presente trabalho, em porcentagem, comparado a outros estudos, ficou bem próxima.

A Eritromicina, um macrolídeo, é também pouco eficiente quando usado em *Salmonella* spp., o que explica o resultado encontrado quanto à resistência ao medicamento neste estudo (89%). Pinheiro et al. (2008), encontrou *Salmonella* spp. em carcaças de frango com 100% de resistência à Eritromicina assim como Colla et al. (2014) em sorovares do tipo Panama, o que certifica que este medicamento não é eficiente contra esta classe de bactérias.

A resistência encontrada quando analisado o antibiótico Cefalexina, pertencente à classe das cefalosporinas de primeira geração, demonstra que a maioria das cepas eram resistentes a este medicamento. O resultado não é incomum, visto que em outro trabalho no Sudão que utilizava este antimicrobiano em cepas de diversas origens, como humanos, água e outros animais, 50% das amostras foram resistentes (ELMADIENA et al., 2013), um pouco abaixo do resultado encontrado no dado estudo. A Cefalexina possui uma melhor atividade nas bactérias gram positivas, ou seja, na *Salmonella*, como uma bactéria gram negativa, já se esperava uma certa resistência a este antibiótico.

A Ciprofloxacina, uma quinolona, classe muito utilizada em medicina veterinária e uma das principais opções em salmoneloses graves (COLLA et al., 2014), foi eficiente na maioria dos isolados. Um estudo no qual foram analisadas amostras colhidas de porcos e de surtos de salmoneloses encontraram 38,5% das cepas resistentes à Ciprofloxacina (BORGES et al., 2017), um resultado próximo ao encontrado no presente trabalho (33%). Por outro lado, Day (2017), em seu estudo relatou uma resistência de 73,5% de seus isolados do tipo Typhi a este medicamento. O fator que pode ser a causa desta resistência é o uso amplo desta classe de medicamentos.

No caso da Cefotaxima, outro representante da classe das cefalosporinas de terceira geração, bastante utilizado no caso de infecções hospitalares e contra bactérias gram negativas, apresentou uma resistência em 22% das cepas testadas. Amostras colhidas de frangos na China, feito por Wang et al., 2017, demonstrou um resultado divergente ao encontrado no atual estudo, com 44,7% das cepas resistentes a este antimicrobiano, assim como em outro estudo retirando amostras de também de frangos na China mostrou um resultado de 10,1% de bactérias resistentes (BAI, 2016).

Outro antibiótico de importância clínica utilizado foi a Ceftriaxona, cefalosporina de terceira geração (espectro estendido), que resultou em 11% das amostras resistentes a ela, assim como a Azitromicina (macrolídeo) e a Neomicina (aminoglicosídeo), ou seja, pequena parte das cepas conseguiram evitar seus diferentes mecanismos de ação. Em um estudo realizado nos Estados Unidos de 2004 a 2012 demonstrou que 3,3% das amostras eram capazes de resistir à Ceftriaxona (MEDALLA, 2017), um resultado menor que o encontrado no presente trabalho, mas que pode servir como modelo de comparação, assim como o estudo de Rustici et al. (2006), que resultou em 0,8% das amostras resistentes.

A Azitromicina apesar de ser um medicamento antigo e pouco utilizado atualmente, exceto em colírios e pomadas (PINHEIRO, 2017) demonstrou uma boa eficiência quanto ao seu mecanismo de ação, inclusive Day (2017), em sua pesquisa não relatou cepas resistentes a este medicamento. Por fim a Neomicina apresentou também um bom resultado de ação, conseguindo agir em praticamente todas as cepas testadas, assim como no estudo de Menin et al. (2008), no qual apenas 6,2% das amostras demonstraram-se resistentes ao antimicrobiano.

Apesar de não haver muitos estudos quanto ao processamento da carne de rã, com foco na presença de microrganismos, o resultado de outras espécies torna esperado a existência de uma vasta multirresistência em bactérias, no caso a *Salmonella spp.* No Brasil a utilização de medicamentos na veterinária não é tão bem controlada (BORGES et al., 2017) e isso favorece o surgimento de cepas resistentes. Neste trabalho, todas as cepas encontradas foram resistentes a dois ou mais antimicrobianos e 5 delas (A1, A2, B1, C1 e C2 = 55,5%) a três ou mais, sendo classificados como multirresistentes.

A multirresistência foi assim classificada pois foram resistentes a antimicrobianos de três ou mais classes diferentes. Isso quer dizer que algumas das amostras de *Salmonella spp.* coletadas podem driblar diferentes mecanismos de ação desses antimicrobianos. Dados coletados em outro estudo de mostraram que 85,2% das cepas de *Salmonella spp.* colhidas da carne de frango foram multirresistentes (SHRESTHA, 2017), ou seja, resistiram a antibióticos que agem com mecanismos de ação diferentes. Na Tailândia amostras também da carne de frango mostraram-se multirresistentes (84%) (GODOY, 2014). Em contrapartida, Odoch (2017) encontrou resultados diferentes, ou seja, uma menor parte das amostras eram multirresistentes (15,4%).

A partir da análise do padrão de resposta de cada cepa aos diversos antimicrobianos, diferentes perfis de resistência foram encontrados, ou seja, não houve um padrão bem estabelecido sobre a capacidade das amostras de evitar a ação dos medicamentos

utilizados. Somente os isolados A4 e B2 se encaixaram no mesmo perfil (H) e coincidentemente eles foram isoladas do mesmo animal em pontos diferentes do abate, podendo demonstrar que a mesma *Salmonella* permaneceu na carcaça de uma etapa a outra, mostrando uma falha nas etapas do processo para eliminação de microrganismos.

Com isso, um padrão de susceptibilidade bem variado foi traçado (8 ao total), o que pode ser resultado da coleta de diferentes sorotipos de *Salmonella* ou apenas microrganismos que conseguem resistir de maneira diversa aos diferentes medicamentos de importância clínica utilizados. A exemplo disso, os isolados A2 e B2, que não exibiram o mesmo perfil, foram coletados de uma mesma rã em diferentes pontos do abate.

Estas maneiras variadas de responder à ação de um medicamento pode ser um problema, pois bactérias da mesma classe podem não ser susceptíveis a diversos antimicrobianos, até mesmo aqueles que são a primeira opção de medicação, o que causa uma dificuldade no tratamento das salmoneloses. Por fim, estes resultados mostram que é de grande importância uma melhora nas medidas profiláticas para o controle da veiculação da *Salmonella* no setor da ranicultura para evitar a disseminação de cepas causadoras de doenças e além disso, o uso responsável de agentes antimicrobianos com o objetivo de diminuir o surgimento de bactérias multirresistentes.

5. CONCLUSÃO

O presente trabalho é condizente com outros que tiveram o mesmo objetivo. A maior parte das cepas coletadas demonstraram-se multirresistentes e isto é preocupante, pois mostra que a ação dos medicamentos que auxiliam na nossa saúde possa já não ser eficiente. O perfil de susceptibilidade confirma que as cepas exibem variados padrões de resistência, o que pode causar dificuldade no tratamento das doenças causadas por estes microrganismos. Por isso, medidas de controle de higiene e normas para o uso correto de

antimicrobianos tanto em pacientes quanto na produção animal devem ser adotadas, pois surtos podem acontecer e a população sofrer com bactérias mais adaptadas e difíceis de combater, causando um problema ainda maior para a saúde pública, tendo em vista que a *Salmonella* é uma das principais causadoras de doenças transmitidas por alimentos.

REFERÊNCIAS

- CARRARO, Karen Cristina. Ranicultura: um bom negócio que contribui para a saúde. **Revista Fae**, Curitiba, v. 11, p.111-118, 20 jun. 2008.
- FERREIRA, Cláudia Maris; PIMENTA, Andréa Galvão César; PAIVA NETO, João Simões. **INTRODUÇÃO À RANICULTURA**. 2002. 16 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina Veterinária, Instituto de Pesca, São Paulo, 2002.
- OLIVEIRA, Elenise Gonçalves de. RANICULTURA: NOVOS DESAFIOS E PERSPECTIVAS DO MERCADO. **Ciência Animal**, Fortaleza, v. 25, n. 1, p.173-186, jun. 2015.
- SPRICIGO, Denis Augusto et al. Prevalência, quantificação e resistência a antimicrobianos de sorovares de *Salmonella* isolados de lingüiça frescal suína. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Lages, v. 28, n. 4, p.779-785, out. 2008.
- TEIXEIRA, Paulo José Zimmermann et al. Pneumonia associada à ventilação mecânica: impacto da multirresistência bacteriana na morbidade e mortalidade. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**. Porto Alegre, p. 540-548. maio 2004.
- RIBEIRO, A.r.; A. Kellermann; L.R. dos Santos; A.P. Fittél; V.P. do Nascimento. RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA EM *Salmonella* ENTERICA SUBSP. ENTERICA SOROVAR HADAR ISOLADAS DE CARÇAÇAS DE FRANGO. **Arquivos do Instituto Biológico.**, São Paulo, v. 73, n. 3, p.357-360, set. 2006.
- CORTEZ, A.I.I. et al. RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE CEPAS DE *SALMONELLA* SPP. ISOLADAS DE ABATEDOUROS DE AVES. **Arq. Inst. Biol**, São Paulo, v. 73, n. 2, p.157-163, jun. 2006.
- SHINOHARA, Neide Kazue Sakugawa et al. *Salmonella* spp., importante agente patogênicoveiculado em alimentos. **Red de Revistas Científicas de América Latina y El Caribe**, Recife, v. 13, n. 5, p.1675-1683, jun. 2008.
- BARREIRA, Viviane Brandão. **ANÁLISE BACTERIOLÓGICA DA CARNE DE RÃ-TOURO (*Lithobates catesbeianus*) COMERCIALIZADA NO MUNICÍPIO DO RIO DE JANEIRO, ESTADO DO RIO DE JANEIRO, BRASIL**. 2009. 85 f. Dissertação (Pós-graduação) - Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2009.

- RIBAS, A.; POONLAPHDECHA, S. Wild-Caught and Farm-Reared Amphibians are Important Reservoirs of *Salmonella*, A Study in North-East Thailand. **Zoonoses and Public Health**, v. 64, n. 2, p. 106–110, 2017.
- PROENÇA, A. et al. Ocorrência de *Salmonella* Spp em Alimentos Não Processados e em Produtos Industrializados e Identificação Sorológica Das Cepas Isoladas. **Proceedings of the XII Latin American Congress on Food Microbiology and Hygiene**, v. 1, p. 423–424, 2014.
- OLIVEIRA, E. G. Ranicultura: novos desafios e perspectivas do mercado. **Ciência Animal**, v. 25, n. 1, p. 173–186, 2015.
- NEITZKE, DEISI CARINE, CLEBER RABELO DA ROZA, F. H. W. Segurança dos alimentos : contaminação por *Salmonella* sp . no abate de suínos Food safety : *Salmonella* sp . contamination in swine slaughter. p. 1–8, 2017.
- MARIA, S. Lingüiças E Cortes Comerciais De Frango. p. 14–17, 2005.
- MARCHAIM, D. et al. Epidemiology of bacteremia episodes in a single center: Increase in Gram-negative isolates, antibiotics resistance, and patient age. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 27, n. 11, p. 1045–1051, 2008.
- LIMA, A. L. et al. Sorovares e perfil de suscetibilidade a antimicrobianos em *Salmonella* spp. Isoladas de produtos de origem suína. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 68, n. 1, p. 39–47, 2016.
- BUSH, K. et al. Tackling antibiotic resistance (Essay). **Nat Rev Microbiol**, v. 9, 2011.
- BARROSO, I. Clássico francês, rã resiste em poucos cardápios de SP; saiba como p. p. 1–7, 2017.
- BRASIL. Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017. **Riispoa**, p. 1–108, 2017.
- ALMEIDA, G. DE. Diagnóstico Da Salmonelose E Sua Importância Para a Avicultura. **Revista Científica Eletônica De Medicina Veterinária**, v. 10, n. 4, p. 8, 2008.
- RIBEIRO, A. R. et al. Resistência antimicrobiana em *Salmonella enteritidis* isoladas de amostras clínicas e ambientais de frangos de corte e matrizes pesadas. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**, v. 60, n. 5, p. 1259–1262, 2008.
- BORGES, K. A. et al. Phenotypic and Molecular Characterization of *Salmonella enteritidis* SE86 Isolated from Poultry and Salmonellosis Outbreaks. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 14, n. 12, p. fpd.2017.2327, 2017.
- KEMPF, A. J.; HULSEBUS, H. J.; AKBAR, S. Multiple Plasmids Contribute to Antibiotic Resistance and Macrophage Survival *In Vitro* in CMY2-Bearing *Salmonella enterica*. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 13, n. 7, p. 398–404, 2016.
- SHRESTHA, A. et al. Multi-drug resistance and extended spectrum beta lactamase producing Gram negative bacteria from chicken meat in Bharatpur Metropolitan, Nepal. **BMC Research Notes**, v. 10, n. 1, p. 574, 2017. BEGUM, K.; JUHARA, S.; AHMED,

- A. Antibiótico Resistência , plasmídeos e Integron Perfil *Salmonella* Espécies isoladas de aves Farm e pacientes. v. 15, p. 209–214, 2016.
- BEGUM, K.; JUHARA, S.; AHMED, A. Antibiótico Resistência , plasmídeos e Integron Perfil *Salmonella* Espécies isoladas de aves Farm e pacientes. v. 15, p. 209–214, 2016.
- ELMADIENA, M. M. A. N. et al. Antimicrobial susceptibility and multi-drug resistance of *Salmonella enterica* subspecies enterica serovars in Sudan. **Tropical Animal Health and Production**, v. 45, n. 5, p. 1113–1118, 2013.
- MEDALLA, F. et al. Estimated Incidence of Antimicrobial Drug – Resistant Nontyphoidal *Salmonella*. **Emerging Infectious Diseases**, v. 23, n. 1, p. 2004–2012, 2017.
- BAI, L. et al. Emergence and diversity of *Salmonella enterica* serovar Indiana isolates with concurrent resistance to ciprofloxacin and cefotaxime from patients and food-producing animals in China. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 60, n. 6, p. 3365–3371, 2016.
- MENIN, A. et al. Agentes bacterianos enteropatogênicos em suínos de diferentes faixas etárias e perfil de resistência a antimicrobianos de cepas de *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. **Ciência Rural**, v. 38, n. 6, p. 1687–1693, 2008.
- DAY, M. R. et al. Comparison of phenotypic and WGS-derived antimicrobial resistance profiles of *Salmonella enterica* serovars Typhi and Paratyphi. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 5 dez. 2017.
- ODOCH, T. et al. Prevalence, antimicrobial susceptibility and risk factors associated with non-typhoidal *Salmonella* on Ugandan layer hen farms. **BMC Veterinary Research**, v. 13, n. 1, p. 365, 2017.
- PINHEIRO, Natã; RIBEIRO, A.; SARTORI, G. CONTROLE DE QUALIDADE MICROBIOLÓGICO NA CADEIA DE ABATE DE BOVINOS. SaBios-Revista de Saúde e Biologia, [S.l.], v. 11, n. 1, p. 1-11, jun. 2016. ISSN 1980-0002. Disponível em: <<http://revista.grupointegrado.br/revista/index.php/sabios2/article/view/1386>>. Acesso em: 12 dez. 2017.
- COLLA, F. L. et al. Perfil de sensibilidade aos antimicrobianos e eficácia de sanitizantes frente aos isolados de *Salmonella* spp. oriundos de carcaças suínas no Rio Grande do Sul. **Pesq. Vet. Bras**, v. 34, n. 4, p. 320–324, 2014.
- GALES, A. C. et al. Comparação das atividades antimicrobianas de meropenem e Aceito para publicação em 27/07/01 imipenem/cilastatina: o laboratório necessita testar rotineiramente os dois antimicrobianos? 2001.
- LIMA, A. L. H.- et al. Alterações da microbiota conjuntival e palpebral após uso tópico de lomefloxacina e tobramicina na cirurgia de catarata e cirurgia refrativa. **Arq Bras Oftalmol**, v. 65, p. 21–9, 2002.
- OLIVO, M. C.; ROSA, D. INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS CURSO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS. 2010.

SEIXAS, F. N.; FERRAZ, R. T. E S. M. PRESENÇA DE *Salmonella* sp. EM CARCAÇAS SUÍNAS AMOSTRADAS EM DIFERENTES PONTOS DA LINHA DE PROCESSAMENTO. p. 634–640, 2009.

WOLF, C. ESTUDO DE CASO DA HIGIENE (LIMPEZA E DESINFECÇÃO) EM MATADOURO-FRIGORÍFICO DE BOVINOS, SUÍNOS E OVINOS. 2017.

BRASIL. **Decreto Nº 9.013, de 29 de Março de 2017**. Brasília, 29 mar. 2017.

WHO. **Antimicrobial resistance**. 2017. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/en/>>. Acesso em: 26 nov. 2017.

CDC. **Salmonella**. 2015. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/salmonella/index.html>>. Acesso em: 20 nov. 2017.

PORTARIA NO 368, DE 04 DE SETEMBRO DE 1997. **Regulamento Técnico Sobre As Condições Higiênico-sanitárias e de Boas Práticas de Elaboração Para Estabelecimentos Elaboradores/ Industrializadores de Alimentos**.. São Paulo, 1997.

MINOZZO, Marcelo Giordani. **Processamento e Conservação do Pescado**. Curitiba: E-tec Brasil, 2011. 166 p.