

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

LETÍCIA PEIXOTO RIBEIRO

***Salmonella* Heidelberg ISOLADAS DE ALIMENTOS E PACIENTES HUMANOS:
SUSCEPTIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS**

UBERLÂNDIA - MG

2018

LETÍCIA PEIXOTO RIBEIRO

***Salmonella* Heidelberg ISOLADAS DE ALIMENTOS E PACIENTES HUMANOS:
SUSCEPTIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS**

Estudo apresentado à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências para a aprovação na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Daise Aparecida Rossi

Co-orientador: Msc. Guilherme Paz Monteiro

UBERLÂNDIA - MG

2018

LETÍCIA PEIXOTO RIBEIRO

***Salmonella* Heidelberg ISOLADAS DE ALIMENTOS E PACIENTES HUMANOS:
SUSCEPTIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS**

Estudo apresentado à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências para a aprovação na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II.

Uberlândia, 12 de dezembro de 2018.

BANCA EXAMINADORA:

Prof^a. Dr^a. Daise Aparecida Rossi (Orientadora)
UFU/MG

Prof^a. Dr^a. Belchiolina Beatriz Fonseca
UFU/MG

Dr^a. Eliane Pereira Mendonça
UFU/MG

“O sucesso nada mais é que ir de fracasso em fracasso sem que se perca o entusiasmo”
(Winston Churchill).

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a minha professora orientadora Daise que foi grande colaboradora na elaboração deste projeto.

Dedico também aos meus pais, que me apoiaram e tornaram possível a realização do desejo de uma filha.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar aos meus pais Marcelo e Valéria, por todo apoio, paciência, dedicação, amor e especialmente, pela educação que me deram, sou grata a vocês por ser quem eu sou hoje. Obrigada por cuidarem de mim, me incentivarem e por sempre estarem ao meu lado, apoiando as minhas escolhas. Vocês são a minha força e motivação.

À Professora Daise e ao meu co-orientador Guilherme, sempre dispostos a me ajudar na realização deste trabalho. Obrigada pelas orientações, atenção, paciência, e ensinamentos, que foram fundamentais.

À todos os professores que contribuíram para minha formação nesses cinco anos de faculdade.

À minha irmã, Larissa pela força que me dá e por estarmos sempre juntas nos momentos mais importantes. Obrigada pelo companheirismo e carinho.

Ao meu afilhado Miguel, que trouxe mais alegria para minha vida. Obrigada por cada sorriso seu que enche minha vida de entusiasmo.

E a todos amigos e familiares que torceram por mim.

Aos meus colegas de classe, em especial a Maria Clara que estiveram junto comigo, dando força diante das dificuldades ao longo desses cinco anos.

À toda equipe LABIO, por todos os ensinamentos e pelo acolhimento.

À professora Bia e a pós-doutoranda Eliane que aceitaram compor esta banca de defesa. Obrigada pela disponibilidade de participar e pela avaliação deste trabalho.

Muito obrigada a todos.

RESUMO

As bactérias do gênero *Salmonella* estão frequentemente relacionadas a surtos de infecções humanas no mundo todo, sendo veiculadas pelo consumo de alimentos contaminados, principalmente aqueles de origem animal, com destaque para a carne de frango. Dentre os micro-organismos pertencentes ao gênero *Salmonella*, o sorovar Heidelberg é considerado invasivo e capaz de causar doenças com maior gravidade ao homem e apresenta frequentemente resistência aos antimicrobianos. Isso reforça a preocupação com este sorovar, pois o aparecimento de cepas de salmonelas resistentes aos antimicrobianos tem se tornado uma crescente preocupação para a segurança alimentar, e conseqüentemente, para saúde pública. Objetivou-se avaliar a susceptibilidade de isolados de *S. Heidelberg* a antimicrobianos pertencentes às classes de maior importância para uso humano e veterinário: ceftriaxona, colistina e meropenem. Utilizou-se o teste de concentração inibitória mínima (CIM) para avaliar 14 cepas de *Salmonella* Heidelberg, sendo três isoladas de material clínico de humanos e 11 isoladas de alimentos durante os anos de 2011 a 2017. As amostras apresentaram um perfil de resistência de 21,4% para ceftriaxona e de 14,29% para a colistina, já para o meropenem 100% das cepas se mostraram sensíveis aos antibióticos testados. Os resultados obtidos confirmaram um aumento de resistência aos antimicrobianos testados em *Salmonella* Heidelberg isoladas de pacientes humanos e na produção animal, o que alerta uma condição de risco potencial para saúde pública, requerendo uma vigilância constante na produção animal, bem como o uso racional de antimicrobianos, como forma de evitar falhas no tratamento de salmoneloses, e conseqüentemente, infecções persistentes tanto em animais quanto em seres humanos.

Palavras-chave: Antibióticos. CIM. Resistência. Salmonelose.

ABSTRACT

Bacteria of the genus *Salmonella* are often related to outbreaks of human infections worldwide, being transmitted by the consumption of contaminated foods, mainly those of animal origin, especially the meat of chicken. Among the microorganisms belonging to the genus *Salmonella*, serovar Heidelberg is considered to be invasive and capable of causing diseases of greater severity to humans and is frequently resistant to antimicrobials. This reinforces the concern with this serovar, as the emergence of antimicrobial resistant strains of salmonella has become a growing concern for food safety, and consequently for public health. The objective of this study was to evaluate the susceptibility of *S. Heidelberg* isolates to antimicrobials belonging to the most important classes for human and veterinary use: ceftriaxone, colistin and meropenem. The minimum inhibitory concentration (MIC) test was used to evaluate 14 strains of *Salmonella Heidelberg*, three isolates of clinical material from humans and 11 isolates from food during the years 2011 to 2017. The samples had a resistance profile of 21,4% for ceftriaxone and 14.29% for colistin, whereas for meropenem 100% of the strains were sensitive to the antibiotics tested. The results confirmed an increase in antimicrobial resistance tested in *Salmonella Heidelberg* isolated from human patients and in animal production, which warns of a potential risk to public health, requiring constant monitoring in animal production, as well as the rational use of antimicrobials, as a way of avoiding failures in the treatment of salmonellosis, and consequently, persistent infections in both animals and humans.

Keywords: Antibiotics. MIC. Resistance. Salmonellosis.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	9
1.1 Objetivos	11
1.1.1 Objetivo geral	11
1.1.2 Objetivos específicos	11
2 REFERENCIAL TEÓRICO	12
3 MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1 Obtenção das amostras	22
3.2 Escolha dos antibióticos.....	23
3.3 Teste de concentração inibitória mínima.....	23
3.4 Interpretação dos resultados.....	24
3.5 Análise dos resultados	25
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
5 CONCLUSÃO	33
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Salmonella é um gênero bacteriano pertencente à família Enterobacteriaceae, que é composta por bastonetes Gram negativos, não esporulados e anaeróbios facultativos (SILVEIRA, 2012). Existem mais de 2500 sorotipos de salmonelas já descritos, sendo a maioria patogênica ao homem (ALMEIDA, 2015). Estes micro-organismos causam uma doença infecciosa denominada salmonelose, cuja veiculação está associada à ingestão de alimentos e água contaminados (PINTO, 2000).

A salmonelose é uma das principais doenças transmitidas por alimentos que afetam a população mundial, com frequentes surtos tanto em países desenvolvidos, como em desenvolvimento (WHO, 2016). Possui manifestação clínica gastroentérica, com sinais inespecíficos que podem ser mal diagnosticados, sobrecarrega o sistema de saúde pública e, conseqüentemente, gera custos significativos para a comunidade (ALMEIDA, 2015).

Os produtos de origem avícola são os principais envolvidos na transmissão de salmonelose para humanos, devendo ser controlada a presença da *Salmonella* nesses alimentos (ALMEIDA, 2015). O controle e redução da quantidade de certos patógenos causadores de zoonoses como *Salmonella* nos sistemas produtivos de alimentos de origem animal é uma exigência de regulamentos nacionais e internacionais (FIGUEIREDO et al., 2013). Em países da Europa em que o controle da *Salmonella* em alimentos é mais rígido, não há um limite permitido para sorovares de salmonelas que causam infecções em humanos, sendo a sua presença considerada uma barreira sanitária para exportação, ocasionando uma limitação na comercialização e elevados prejuízos econômicos, devido a perdas indiretas e embargos econômicos impostos pelos países importadores (SHINOHARA et al., 2008).

Dentre os sorovares pertencentes ao gênero *Salmonella* que causam infecções em humanos e presentes na cadeia de produção de alimentos de origem animal, o sorovar Heidelberg é considerado invasivo e capaz de causar doenças com maior gravidade ao homem, apresentando uma alta porcentagem de casos que necessitam de hospitalização e uma frequente resistência aos antimicrobianos (CHITTICK et al., 2006).

A ocorrência e disseminação de cepas de salmonela invasivas e resistentes aos antimicrobianos, como o sorovar Heidelberg são difíceis de explicar, estando associadas principalmente à aquisição e a transferência de genes de resistência aos antibióticos. Também a utilização profilática e em longo prazo de antibióticos na criação de animais pode exercer pressão de seleção sobre as bactérias e favorecer assim, a sobrevivência e disseminação dessas cepas (ALEKSHUN; LEVY, 2007). Várias autoridades internacionais em saúde consideram a ocorrência de resistência antimicrobiana em micro-organismos zoonóticos como um dos principais problemas emergentes de importância para a saúde pública (MOORE et al., 2006).

Cepas de *Salmonella* Heidelberg resistentes aos antimicrobianos, quando transferidas para o homem pelo consumo de alimentos contaminados, comprometem a eficácia terapêutica dos antibióticos, e conseqüentemente podem resultar em falhas no tratamento das salmoneloses, ocasionando complicações clínicas graves com aumento dos casos de hospitalizações, e até em alguns casos, de óbitos (FIGUEIREDO et al., 2013). Isso reforça a preocupação com este sorovar devido suas implicações em saúde pública (COLLA et al., 2012).

Em função dos riscos que *S. Heidelberg* representa para a comunidade observa-se a necessidade de um melhor conhecimento das características de resistência, sendo de extrema importância pesquisas para avaliar o perfil de susceptibilidade antimicrobiana desse sorovar utilizando técnicas microbiológicas modernas e padronizadas (YAN et al., 2004). O diagnóstico da suscetibilidade aos antimicrobianos pela determinação da concentração inibitória mínima possibilita obter resultados precisos quanto às doses mínimas da droga capaz de impedir o crescimento dos micro-organismos, permitindo-se fazer um monitoramento contínuo da resistência antimicrobiana (BRASIL, 2012). Esse monitoramento periódico e cuidadoso da resistência bacteriana é bastante importante na caracterização das cepas circulantes, na escolha da terapia, na vigilância de eventual emergência de resistência e na detecção precoce de novos mecanismos de resistência (MIMICA; MENDES; MIMICA, 2008). Todo esse conhecimento é fundamental para avaliação do perigo que esse patógeno representa para saúde pública e para indicação de posteriores medidas de controle mais efetivas para prevenir a presença desse patógeno nos alimentos (MENDONÇA, 2011).

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo geral

Verificar a suscetibilidade de cepas de *Salmonella* Heidelberg isoladas de alimentos e materiais clínicos de humanos a três tipos diferentes de antimicrobianos usados na clínica veterinária e humana utilizando a técnica de Concentração Inibitória Mínima (CIM).

1.1.2 Objetivos específicos

- Determinar a concentração inibitória mínima para os antimicrobianos pertencentes às classes dos β -lactâmicos subclasse das cefalosporinas de terceira geração (ceftriaxona), polimixina E (colistina), e a dos carbapenêmicos (meropenem) em cepas de *Salmonella* Heidelberg;
- Utilizar os resultados para determinar os perfis de resistência mais frequentes;
- Baseado na determinação da presença de resistência aos antimicrobianos nas cepas, discutir o perigo que o sorovar Heidelberg representa para a saúde humana, discutindo suas implicações da para a saúde pública.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

Com a rotina da sociedade atual, caracterizada principalmente pela falta de tempo da população, houve um aumento da busca por produtos que proporcionam conveniência e praticidade no dia a dia. Isso provocou um crescente aumento na demanda por produtos industrializados, minimamente processados, refrigerados ou prontos para o consumo, produzidos em grande escala, o que pode contribuir para o aumento da disseminação de doenças transmitidas por alimentos (FAI et al., 2011).

A evolução e tecnificação da produção industrial de alimentos resultaram em uma melhoria da qualidade sanitária e higiênica dos alimentos, mais ainda assim, se verifica a existência de surtos de infecções alimentares (NADVORNY, FIGUEIREDO, SCHMIDT, 2004).

Salmonelose é o termo genérico usado para definir um grupo de doenças infecciosas ocasionadas por qualquer bactéria pertencente ao gênero *Salmonella* (SANTOS et al., 2013). Estes micro-organismos pertencem à família Enterobacteriaceae, são bacilos não formadores de esporos, gram negativos, na sua maioria móveis devido à presença de flagelos peritríquios, anaeróbios facultativos, catalase positiva, oxidase negativa, produzem ácidos e fermentam a glicose e outros açúcares, reduzem nitrato a nitrito e descarboxilam aminoácidos como a lisina (FELIPE, 2008).

Salmonella spp. está amplamente difundida na natureza e é capaz de infectar o homem e praticamente todas as espécies animais, sendo considerado um gênero importante na medicina veterinária e na saúde pública, ocasionando extensas perdas econômicas na produção animal e para a comunidade (FARIA, 2013). Existem mais de 2500 sorotipos de *Salmonella* já descritos, cuja grande maioria é patogênica aos humanos por serem não adaptadas a hospedeiros específicos, as chamadas paratíficas (CASTILLA, 2003).

Dentre as doenças transmitidas por alimentos, a salmonelose é uma das que possuem maior ocorrência no Brasil e no mundo, surtos por *Salmonella* apresentam um aumento acentuado e contínuo no número de casos relatados desde a década de 70, com alta prevalência em vários países, tanto desenvolvidos quanto aqueles em desenvolvimento (TÉO; OLIVEIRA, 2005; WHO, 2016). Logo, *Salmonella* é considerada uma zoonose comum e complexa que afeta a saúde

pública mundial, devido a suas características de endemicidade e alta morbidade (SHINOHARA et al., 2008).

A via oral é a principal forma de transmissão de *Salmonella* para os humanos, ocorrendo à infecção pela ingestão de alimentos e água contaminados com células viáveis da bactéria (SANTOS et al., 2013). O período de incubação varia de 6 a 72 horas após a ingestão do agente, tendo como manifestações clínicas, sinais e sintomas gastroentéricos, que iniciam com mal estar, cefaléia, calafrios, mialgias, febre, náuseas, vômito e progride para dores abdominais e diarreia, que varia de brandas a severas. Esta bactéria invade e danifica a mucosa intestinal fazendo com que haja diarreia, que pode apresentar sangue, e também febre de 38 a 40°C (BAÚ; SIQUEIRA; MOOZ, 2015).

Pode ocorrer variação nos sinais clínicos, pois a susceptibilidade e a severidade da infecção em humanos dependem de fatores como a dose infectante do patógeno, a idade e a resposta imune do hospedeiro, não sendo considerada uma doença grave em indivíduos imunocompetentes, em que a maioria dos episódios ocorre como uma infecção autolimitante. Porém, imunodeprimidos, desnutridos, crianças e idosos são mais susceptíveis, podendo ocorrer complicações clínicas mais graves, e em alguns casos, evoluir para óbito (CASTILLA, 2003).

Os sinais clínicos observados na avaliação médica associados aos relatos do paciente são considerados inespecíficos, podendo se manifestar em uma gastroenterite comum até uma septicemia. Esses sinais podem ser mal diagnosticados, e surtos de salmonelose sobrecarregar o sistema de saúde, gerando custos significativos para os cofres públicos e para a população (ALMEIDA, 2015). Dessa forma, mesmo a salmonelose humana sendo uma doença comum e com uma baixa taxa de mortalidade é preciso levar em conta que essa doença é considerada uma das maiores preocupações da saúde pública (BAÚ; SIQUEIRA; MOOZ, 2015).

Muitos casos da doença permanecem subnotificados e não representam a realidade de ocorrência no país, e ainda, quando o agente etiológico é identificado, não há maiores investigações sobre o mesmo, ficando restrito à identificação apenas do gênero bacteriano (*Salmonella* spp.). Assim, no Brasil, não se conhece os sorovares envolvidos em casos de surtos de doença alimentar, tampouco características de virulência do patógeno e perfil molecular das cepas circulantes e

os dados sobre salmonelose em humanos ainda são muito limitados (SHINOHARA et al., 2008).

As principais fontes de infecção de *Salmonella* para o homem são os animais (PINTO, 2000). Segundo dados epidemiológicos, as infecções alimentares por salmonelas são veiculadas principalmente por alimentos de origem animal como as carnes cruas, os ovos e o leite e derivados não tratados termicamente, seguidos ainda por alguns produtos agrícolas não processados como as frutas, verduras e hortaliças (PINTO, 2000; OLIVEIRA et al., 2012).

As aves são consideradas o ponto central na epidemiologia das salmoneloses entéricas, pois o trato intestinal desses animais são reservatórios de grande importância sanitária e difícil controle (SHINOHARA et al., 2008). As aves adultas acometidas por salmonelas paratíficas geralmente são infectadas de forma assintomática e eliminam a bactéria em grande número nas fezes, contaminando o ambiente, onde podem resistir por muito tempo, especialmente em presença de matéria orgânica. A contaminação do ambiente com as fezes desses animais são as principais fontes da contaminação para outras aves, podendo levar a contaminação da carcaça posteriormente, disseminando a bactéria para os seres humanos (CASTILLA, 2003).

Durante as operações de abate e de processamento na indústria, a presença de *Salmonella* no conteúdo intestinal, cloaca, pele e penas das aves levam a uma consequente contaminação da carne de frango e seus derivados, mesmo quando os abatedouros são dotados de boas práticas de higienização (BRYAN; DOYLE, 1995). Além disso, a refrigeração inadequada e a manipulação durante o preparo desses alimentos em cozinhas industriais e domiciliares são fatores importantes de contaminação cruzada (CASTILLA, 2003; TÉO; OLIVEIRA, 2005).

Assim, os produtos de origem avícola são os alimentos mais envolvidos na transmissão de salmonelose aos humanos, sendo alta a contaminação da carne de aves e seus derivados, e por isso, são considerados fatores de risco para infecção comprometendo a segurança alimentar da população (MENDONÇA, 2016).

A salmonelose é uma zoonose extremamente importante na saúde pública, que possui alto potencial de disseminação e difícil controle, cuja principal via de transmissão é alimentar, não havendo dúvida que o homem contrai a infecção na

maioria das vezes pelo consumo de alimentos de origem animal contaminados (TESSARI et al., 2008; MENDONÇA, 2016).

Sendo os produtos de origem avícola os principais envolvidos na transmissão de salmonelose para humanos, deve ser controlada a presença da *Salmonella* nesses alimentos (ALMEIDA, 2015). O controle e redução da quantidade de certos patógenos causadores de zoonoses como *Salmonella* nos sistemas produtivos de alimentos de origem animal é uma exigência de regulamentos nacionais e internacionais (FIGUEIREDO et al., 2013). Sendo que em países da Europa em que o controle da *Salmonella* é mais rígido, não há um limite permitido para sorovares de salmonelas que causam infecções em humanos em alimentos. Logo, a presença de *Samolnella* nos alimentos pode ocasionar uma limitação na comercialização, sendo assim, considerada uma barreira sanitária para a exportação. Isso leva a prejuízos econômicos devido perdas industriais tanto no mercado interno quanto para a exportação devido embargos econômicos impostos pelos países importadores que exigem altos padrões de qualidade microbiológico dos alimentos (SHINOHARA et al., 2008).

Salmonella é uma preocupação na avicultura brasileira, e o Brasil como grande produtor e exportador mundial de carne de aves, tem buscado meios para eliminar ou reduzi-la dos seus produtos, para garantir oferta de alimentos seguros ao consumidor nacional e garantir sua posição de destaque no mercado internacional (TESSARI et al., 2008). Avanços contínuos nos métodos de produção, no manejo sanitário dos plantéis e no controle dos processos de abate são necessários para garantir permanência e reconhecimento do Brasil no mercado avícola (PERIN; BORGA; BERSOT, 2016).

Embora a salmonelose seja normalmente uma doença infecciosa auto limitante, algumas vezes existe a necessidade do uso de antibioticoterapia no seu tratamento, devido às características invasivas da bactéria, especialmente em crianças, idosos ou doentes imunodeprimidos (FIGUEIREDO et al., 2013). Em medicina veterinária, os agentes antimicrobianos além de serem utilizados de forma terapêutica são também utilizados de forma metafilática, profilática e como promotores de crescimento (SCHARWZ et al., 2010). Porém, acredita-se que situações como essas de uso extensivo desses produtos em animais destinados à alimentação humana tem provocado, nos micro-organismos, aumento da resistência

a agentes antimicrobianos, ocasionando emergência de cepas de *Salmonella* resistentes (SILVA; DUARTE, 2002).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) assinalou um aumento alarmante de estirpes de *Salmonella* resistentes aos antimicrobianos devido ao seu uso abusivo em criações de animais intensivas (STEPHENS, 2014).

A resistência microbiana caracteriza-se como sendo a habilidade de um micro-organismo continuar a multiplicar-se ou persistir na presença de níveis terapêuticos de determinado agente antimicrobiano (MENDONÇA, 2016).

Várias pesquisas têm relatado o surgimento de cepas resistentes de *Salmonella* a diversos fármacos (CASTILLA, 2003). A ocorrência e disseminação de cepas de salmonela invasivas e resistentes aos antimicrobianos são difíceis de explicar (ALEKSHUN; LEVY, 2007).

Outro fato que tem sido relacionado ao aparecimento de cepas resistentes é à utilização de antimicrobianos na produção animal como melhorador de desempenho para as aves, que os consomem misturados às rações, como forma de otimizar a produção animal ou como medida profilática (MENDONÇA, 2011; FIGUEREDO, 2015).

O uso de um único antibiótico como tratamento pode selecionar a resistência a outros antibióticos, cujos genes residem no mesmo elemento genético (AAERESTRUP et al., 2001). O grande número de antimicrobianos disponíveis com diferentes mecanismos de ação, assim como os diversos mecanismos de resistência apresentados pelos micro-organismos, incluindo a alteração por mutações do alvo antimicrobiano, também contribuem para a ocorrência da resistência (CASTILLA, 2003).

Além disso, a alta taxa de resistência antimicrobiana em *Salmonella* acontece também devido à prescrição excessiva de antimicrobianos por parte de médicos, a forma incorreta de descarte dos antimicrobianos pela população, que embora seja a forma mais rápida de responder a uma determinada doença, pode causar um aumento na virulência dos patógenos (CARVALHO et al., 2009). Dessa forma, o uso abusivo e exagerado desses produtos em diversas áreas como a medicina humana, medicina veterinária e agricultura tem colaborado amplamente para o surgimento de cepas de *Salmonella* resistentes (WHO, 2015; SOUZA et al., 2010).

Drogas como o cloranfenicol, sulfametoxazol-tripetoprim, ampicilina ou amoxicilina tem sido substituídas pelas cefalosporinas de terceira geração e fluoroquinolonas, porém, em surtos de salmonelose tem emergido também a resistência a estas duas drogas (MENDONÇA, 2016).

Um relatório elaborado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) atestou que os antimicrobianos com maiores percentuais de resistência para cepas de *Salmonella* isoladas de carcaças de frango no Brasil foram para estreptomicina (89,3%), sulfonamidas (72,4%), florfenicol (59,2%), ampicilina (44,8%), ácido nalidíxico (44,0%), ceftiofur (22,8%), aztreonam (20,4%), enrofloxacin (18,4%), cefoxitina (17,3%), cefalotina (12,4%) e tetraciclina (11,2%) (BRASIL, 2012).

Tal circunstância vem ocasionando preocupações quanto às perspectivas no tratamento de infecções por diferentes espécies bacterianas, incluindo *Salmonella* spp. (BRASIL, 2012).

A disseminação de cepas resistentes devido ao uso veterinário de antibióticos tem sido objeto de atenção da comunidade científica mundial, que vem buscando soluções para o problema (MENDONÇA, 2016). Em uma reunião realizada pela FAO/WHO/OIE em Roma, na Itália, no final de 2007, foram apresentadas duas listas elaboradas pela WHO e a OIE referentes, respectivamente, aos antibióticos de uso criticamente importante para a saúde humana e animal (OIE, 2007; WHO, 2007). São chamadas de criticamente importantes por ser a primeira escolha em tratamento de infecções humanas e veterinárias (MENDONÇA, 2016). Foram consideradas como prioritárias para o desenvolvimento de medidas e estratégias para controle da resistência bacteriana, por aparecerem em ambas as listas: cefalosporinas de terceira e quarta gerações, as quinolonas (incluindo as fluorquinolonas) e os macrolídeos. O Brasil, atendendo a esta recomendação, retirou estas moléculas de uso como aditivos, estando liberadas apenas para aplicação terapêutica, na qual são utilizados por um tempo menor e, portanto, a possibilidade de desenvolver resistência é menor (PALERMO; NETO, 2014).

Além disso, de acordo com a Instrução Normativa nº 26, os antibióticos pertencentes às classes dos anfenicóis, tetraciclina, beta lactâmicos das subclasses dos benzilpenicilâmicos e das cefalosporinas, quinolonas e sulfonamidas sistêmicas são na veterinária, de uso exclusivo em terapêutica, sendo vedada a sua

utilização como aditivos zootécnicos melhoradores de desempenho ou como conservantes de alimentos para animais (BRASIL, 2009).

A disseminação de cepas resistentes em humanos pelo consumo de alimentos contaminados ocasiona uma infecção de difícil controle e prevenção (TUNON et al., 2008). Além disso, há o risco de que as moléculas antimicrobianas percam sua eficácia diante de bactérias resistentes, ocorrendo consequentemente falhas no tratamento, o que gera complicações clínicas graves com aumento da necessidade de hospitalizações e dos custos do tratamento, podendo inclusive, ser a causa de óbitos (FIGUEIREDO et al., 2013). Assim a disseminação de cepas de *Salmonella* multirresistentes aos antimicrobianos é uma questão alarmante para saúde pública mundial e reforça a necessidade de uma maior preocupação dos órgãos de vigilância (FIGUEREDO et al., 2015; MENDONÇA, 2016).

Dentre as salmonelas que causam infecções em humanos, o sorovar Heidelberg é invasivo e capaz de causar doenças com maior gravidade que outros sorovares paratíficos (COLLA et al., 2012). É citado como o terceiro isolado mais frequente na avicultura no Canadá e o quarto em doenças transmitidas por alimentos nos Estados Unidos (CHITTICK et al., 2006). Também no Canadá, S. Heidelberg é destaque em saúde pública e alterna com S. Enteritidis a posição de segundo ou terceiro sorovar mais isolado em humanos (DEMEZUK; SOULE; CLARK, 2003). Esse sorovar vem se apresentando emergente, a partir do ano de 2004, particularmente em países da América do Norte e leste europeu (BRASIL, 2012).

No Brasil, desde 1962, *Salmonella* Heidelberg tem sido identificada em aves e produtos derivados (HOFER; SILVA FILHO; REIS, 1997). Dados sobre o isolamento de S. Heidelberg no Brasil são escassos, mas os estudos têm mostrado a tendência de aumento no isolamento deste sorovar (NASCIMENTO et al., 1997; DICKEL, 2004; REZENDE et al., 2005).

O crescente isolamento de S. Heidelberg mostra a presença desta bactéria no ambiente de produção animal podendo contaminar carcaças prontas para consumo, com reflexos na saúde pública (COLLA et al., 2012).

S. Heidelberg tem sido associada com infecções extra-intestinais, septicemia e miocardite, sendo preocupante a alta porcentagem de casos que necessitam de hospitalização. Além de apresentar vários casos invasivos nos quais os tratamentos

com antimicrobianos de primeira linha não obtiveram êxito, levando ao tratamento com outros antimicrobianos, que normalmente não seriam utilizados para salmonelose (CURRIE, 2008).

Em meados de novembro de 2017 o Centro de Controle de Prevenção de Doenças (CDC, do inglês *Center for Disease Control and Prevention*), divulgou informações sobre a intoxicação por *Samonella* Heidelberg que ocasionou surto em vários estados nos EUA. Seu relatório continha relatos de infecção que atingiu 18 estados dos Estados Unidos e provocou o adoecimento de centenas de pessoas, foi emitido um alerta de saúde pública em relação ao frango cru empacotado em três unidades da empresa Foster Farms na Califórnia. Nenhum óbito foi associado, no entanto, a cepas de surto de *Salmonella* Heidelberg foi resistente a vários antibióticos comumente prescritos (MACHADO, 2018).

O CDC em 2017, ao investigar um surto de infecções por *Salmonella* Heidelberg, obteve resultados através de testes de resistência a antibióticos realizados mostrando que isolados clínicos de pessoas doentes eram resistentes a múltiplos antibióticos. Essas descobertas correspondem aos resultados dos métodos padrão de teste de resistência a antibióticos usados pelo laboratório do Sistema Nacional de Monitoramento da Resistência Antimicrobiana do CDC (NARMS) em 10 isolados de 9 pessoas doentes e 1 animal. Todos os 10 isolados eram resistentes à amoxicilina-ácido clavulânico, ampicilina, cefoxitina, ceftriaxona, estreptomicina, sulfisoxazol e tetraciclina. Além disso, nove tinham sensibilidade reduzida à ciprofloxacina, nove eram resistentes ao trimetoprim-sulfametoxazol, seis eram resistentes ao ácido nalidíxico, quatro eram resistentes ao cloranfenicol e um era resistente à gentamicina. Todos os 10 isolados testados foram suscetíveis à azitromicina e meropenem (CDC, 2017).

Em função dos riscos que *S. Heidelberg* representa para a comunidade são necessárias medidas de controle mais eficazes para reduzir a contaminação das carcaças, impedindo a entrada deste micro-organismo na cadeia alimentar, evitando surtos de gastroenterite em seres humanos (MENDONÇA, 2011). Para isso, a indústria deve utilizar um bom programa de biossegurança buscando melhorias de manejo na granja, no transporte, no abate, nos processos de produção e resfriamento da carcaça. Além disto, a resistência aos antimicrobianos deve ser

rigorosamente controlada em micro-organismos zoonóticos (CARRAMIÑANA et al., 2004).

Ressalta-se a frequente resistência deste sorovar às cefalosporinas, incluindo aquelas de 3ª geração como a droga ceftiofur de uso terapêutico e/ou profilático em animais e a ceftriaxona empregada no tratamento da salmonelose invasiva no homem (BRASIL, 2012). Essa redução da suscetibilidade aos antimicrobianos como ceftriaxona limita as opções de tratamento de gestantes e crianças que desenvolvem salmonelose extra-intestinal por *S. Heidelberg* (COLLA et al., 2012). Isso reforça o alerta para a preocupação com este sorovar em relação à saúde pública em face às dificuldades de seu uso terapêutico empírico (BRASIL 2012; COLLA et al., 2012).

Além da vigilância continuada para se controlar a resistência dos antimicrobianos utilizados no tratamento de salmonelose é preciso conhecer o perfil de resistência que as cepas apresentam. As cepas de salmonela não apresentam perfil de susceptibilidade constante aos antimicrobianos utilizados no tratamento de salmonelose, mostrando que são capazes de desenvolver novos e variados mecanismos de resistência a diferentes antimicrobianos (REMONATTO, 2006; SOUTO, 2011).

É de extrema importância pesquisas para avaliar o perfil de susceptibilidade antimicrobiana da *S. Heidelberg* utilizando técnicas microbiológicas modernas e padronizadas (YAN et al., 2004).

Na avaliação do perfil de susceptibilidade antimicrobiana, diferentes métodos podem ser utilizados, sendo os seguintes os mais conhecidos: disco-difusão, macro diluição e micro diluição em caldo e métodos rápidos automatizados (BONA et al., 2014). Os métodos de difusão em ágar ou em caldo são igualmente aceitáveis para medir quantitativamente a atividade *in vitro* de um agente antimicrobiano contra um determinado isolado bacteriano (CLSI, 2013).

O teste de susceptibilidade mais usado na rotina no Brasil e na maioria dos países é o de disco difusão, cujos pontos de corte se baseiam em concentrações séricas dos antimicrobianos (CLSI, 2013). Porém esse teste possui a desvantagem de fornecer apenas um resultado qualitativo, e dessa forma, estudos mencionam o método de concentração inibitória mínima ou CIM, como sendo o mais confiável para avaliar agentes antimicrobianos, por fornecer resultados quantitativos e não ser

influenciado pela velocidade de crescimento do micro-organismo (OSTROSKY et al., 2008).

O teste de CIM é definido como a concentração mais baixa do antimicrobiano necessária para inibir o crescimento de um dado isolado microbiano (CLSI, 2013). A CIM permite analisar as concentrações necessárias para um antimicrobiano eliminar com eficiência um micro-organismo, sendo estes valores de extrema importância para a terapêutica adequada, pois permite constatar se a dose recomendada do fármaco é efetiva contra o agente infectante, e ainda, se a dose necessária para ser obtida uma boa atividade bactericida ou bacteriostática pode ser administrada com segurança (SCHWARZ et al., 2010).

Dessa forma, as metodologias com resultados quantitativos, que determinam a CIM, têm sido escolhidas cada vez mais como complementares ou substitutas de dados qualitativos, como o método de difusão com discos (MIMICA; MENDES; MIMICA, 2008). Além disso, a CIM constitui uma estratégia eficaz para evidenciar tendências de evolução temporal da susceptibilidade de cada espécie (GOULD, 2008).

A avaliação do perfil de susceptibilidade aos agentes antimicrobianos de *S. Heidelberg* por análises *in vitro* é importante para a identificação de drogas para as quais esse microorganismo é sensível e possibilita o tratamento da salmonelose de maneira eficiente e adequada, auxiliando assim na diminuição da resistência aos antimicrobianos (SOUTO, 2011).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Obtenção das amostras

Foram utilizadas 14 cepas de *Salmonella* Heidelberg, isoladas de amostras de alimentos e de material clínico de indivíduos com quadro de salmonelose, durante os anos de 2011 a 2017. As cepas são provenientes da coleção de culturas de Enteropatógenos Bacterianos, que integra a Coleção Biológica de Bactérias de Interesse em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) no Estado do Rio de Janeiro, a qual forneceu todas as informações sobre a origem das mesmas, que se encontram apresentadas na Tabela 1.

A FIOCRUZ encaminhou as cepas em ágar nutriente, devidamente identificadas, isoladas, purificadas e tipificadas antígenicamente ao Laboratório de Biotecnologia Animal Aplicada da Universidade Federal de Uberlândia (LABIO/UFU), onde as mesmas se encontravam depositadas no banco de culturas.

Tabela 1. Cepas de *Salmonella* Heidelberg isoladas pela FIOCRUZ- RJ, entre os anos de 2011 a 2017, por estado, fonte e amostra.

Número da amostra	Ano isolamento	Estado	Fonte	Amostra
1	2011	PR	Alimento	Frango (carcaça)
2	2016	MG	Alimento	Frango (carcaça)
3	2017	RR	Humana	Fezes
4	2017	SC	Alimento	Frango (carcaça)
5	2012	PR	Alimento	Frango (carcaça)
6	2014	SC	Alimento	Frango (carcaça)
7	2016	SP	Alimento	Carne
8	2013	SC	Alimento	Frango (carcaça)
9	2011	RS	Alimento	Frango (carcaça)
10	2015	MA	Humana	Fezes
11	2013	PR	Alimento	CMS*
12	2012	PR	Alimento	CMS*
13	2014	PE	Humana	Fezes
14	2017	SC	Alimento	Frango (carcaça)

*CMS = carne mecanicamente separada

No LABIO-UFU as 14 quatorzes cepas puras de *S. Heidelberg* mantidas em Ágar Nutriente foram reativadas em caldo BHI (Brain Heart Infusion) e incubadas a 37°C por 24 horas. Em seguida foi transferida uma alçada de cada amostra para semeadura em superfície em placas de ágar XLD (Xylose Lysine Desoxycholate) pela técnica de estria por esgotamento e incubadas a 36°C por 24 horas para

obtenção de colônias puras. Após, uma colônia pura de cada amostra foi transferida para ágar TSA (Tryptona de Soja) e incubada a 37°C por 24 horas. Posteriormente, foi realizado o teste de CIM.

3.2 Escolha dos antibióticos

O teste de concentração inibitória mínima foi realizado para os antimicrobianos de maior importância para uso humano e veterinário no tratamento de salmonelose, sendo eles: ceftriaxona (classe dos beta-lactâmicos, sub-classe das cefaloporinas de terceira geração), meropenem (classe dos carbapenêmicos) e colistina (classe da polimixina E).

3.3 Teste de concentração inibitória mínima (CIM)

As análises foram realizadas no Laboratório de Biotecnologia Animal Aplicada da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia (LABIO-UFU).

Nos isolados previamente identificados realizou-se o teste de CIM, pela metodologia da microdiluição em caldo, conforme o protocolo recomendado pelo *Clinical and Laboratory Standards* (CLSI, 2013).

A determinação da CIM foi realizada utilizando placas de poliestireno com 96 poços, estéreis, com o fundo chato para permitir a melhor visualização do crescimento bacteriano.

O preparo da microplaca com as diluições seriadas de um determinado antibiótico consistiu em primeiramente estabelecer os poços da última linha (H) da placa para controle negativo, meio estéril, sendo adicionado somente meio de cultura MH (caldo Mueller Hinton).

Assim, as diluições foram realizadas nos poços da primeira coluna a décima segunda coluna. Considerando como valor máximo da diluição o valor de 256 ug/ml, preparou-se uma solução de antibiótico diluída em meio de cultura MH na concentração 2x (ou seja, 512 ug/ml), a qual foi adicionada num volume de 200 µL nos primeiros poços da placa (diluição 1), seguido de 100 µL de caldo MH no restante da placa em cada poço. Foi realizada diluição seriada 1:2 no sentido

horizontal da placa a partir da primeira coluna. Para isto, utilizou-se uma micropipeta, com a qual o meio foi homogeneizado e 100 µL dos poços da primeira coluna (mais concentrado) foram transferidos para os poços da segunda coluna, para diluição por homogeneização. A partir da segunda coluna, 100 µL dos poços foram transferidos para os poços terceira coluna, e assim sucessivamente, até chegar a décima primeira coluna, quando, após homogeneização do volume de meio com antibiótico diluído 100 µL dos poços foram descartados. As concentrações dos antibióticos testados na microplaca, da primeira coluna a décima segunda coluna foram: 256, 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0,5, 0,25, 0,125 µg/ml (12 diluições). Estas concentrações de antibiótico foram selecionadas utilizando como referência os valores de CIM para *Salmonella* previamente estabelecidos (BrCAST, 2017).

Posteriormente adicionou-se 80 µL do caldo MH em cada um dos poços, de forma que todos fossem preenchidos com um total de 180 µL.

A inoculação de cada uma das cepas bacterianas avaliadas foi realizada da primeira à décima segunda coluna da microplaca. Para isso, previamente foi realizada a suspensão de cada cepa em 2 mL de solução de NaCl 0,85% estéril até atingir turbidez equivalente ao tubo 0,5 da escala de McFarland (aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC.mL⁻¹) de cada amostra. Foram utilizados 20 µL dessa suspensão para inoculação em cada um dos poços. De forma que o volume total final de cada poço foi de 200 µL.

Após a inoculação as placas de microdiluição permaneceram incubadas a 37°C por 16 a 20 horas.

3.4 Interpretação dos resultados

A interpretação dos resultados foi realizada de acordo com as recomendações do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI 2013).

Após a incubação, a leitura da placa com a determinação da CIM foi realizada visualmente a partir dos poços onde não havia o desenvolvimento de crescimento bacteriano significativo visível, não havendo turvação no poço da placa, por comparação com o controle negativo.

O valor da concentração mínima do antibiótico que inibe o crescimento microbiano (concentração inibitória mínima, CIM) foi utilizado para classificar as

cepas conforme perfis de resistência (sensível, intermediário e resistente) que foram interpretados de acordo com as normas com Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing – (BrCAST, 2017), como mostra a Tabela 2.

Tabela 2. Pontos de corte para interpretação de CIMs para *Enterobacteriaceae*.

Antimicrobianos	Ponto de corte p/ CIM (mg/L)		
	Sensível ≤	Intermediário	Resistente >
Ceftriaxona	1	2	>2
Meropenem	2	4-8	>8
Colistina	2	-	>2

Fonte: BRAZILIAN COMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING – BRCAST (2017).

3.5 Análise dos resultados

Os resultados foram tabulados e submetidos à análise por meio da estatística descritiva, com cálculo das porcentagens de isolados suscetíveis ou resistentes aos antibióticos testados, sendo esses resultados utilizados para discussão da sua implicação em saúde pública.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As CIMs dos três antibióticos testados frente às quatorze cepas de *S. Heidelberg* estão apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3. Concentração inibitória mínima dos antibióticos colistina, meropenem, e ceftriaxona, para quatorze cepas de *Salmonella* Heidelberg isoladas pela FIOCRUZ- RJ de amostras de alimentos e pacientes humanos, durante os anos de 2011 a 2017.

Amostras	CIM (ug/ml)		
	Colistina	Meropenem	Ceftriaxona
1	2 (sensível)	- (sensível)	- (sensível)
2	1 (sensível)	- (sensível)	- (sensível)
3	1 (sensível)	- (sensível)	- (sensível)
4	1 (sensível)	- (sensível)	16 (resistente)
5	1 (sensível)	- (sensível)	8 resistente)
6	8 (resistente)	- (sensível)	8 (resistente)
7	4 (resistente)	- (sensível)	- (sensível)
8	1 (sensível)	- (sensível)	- (sensível)
9	2 (sensível)	- (sensível)	- (sensível)
10	2 (sensível)	- (sensível)	- (sensível)
11	1 (sensível)	- (sensível)	- (sensível)
12	2 (sensível)	- (sensível)	- (sensível)
13	2 (sensível)	- (sensível)	- (sensível)
14	2 (sensível)	- (sensível)	- (sensível)

(-) = CIM < 0,125 ug/ml

Os resultados demonstraram um índice de resistência de 21,43% (3/14) para a ceftriaxona (classe dos beta-lactâmicos sub-classe das cefaloporinas de terceira geração) e de 14,29% (2/14) para a colistina (classe da polimixina E), já para o meropenem (classe dos carbapenêmicos) 100% das cepas avaliadas foram sensíveis.

Quatro perfis de resistência aos antimicrobianos foram identificados (A1 a A4), sendo que 21,43% (3/14) apresentou resistência a ceftriaxona ou colistina e 7,14% (1/14) das cepas apresentaram resistência a duas classes de antimicrobianos (ceftriaxona e colistina), não havendo isolados com perfil de resistência às três classes de antimicrobianos testadas (Tabela 4). Os perfis mais frequentes foram A4

71,43% (10/14), com cepas sensíveis a todos antimicrobianos testados, e A1 14,29% (2/14), apresentando cepas com resistência a ceftriaxona.

Tabela 4. Perfis de resistência aos antimicrobianos para quatorze cepas de *Salmonella* Heidelberg isoladas pela FIOCRUZ- RJ de amostras de alimentos e pacientes humanos, durante os anos de 2011 a 2017.

Perfis	Resistência a antimicrobianos	Classes ¹	Números de Cepas (%)
A1	Ceftriaxona	1	2 (14,29%)
A2	Colistina	1	1 (7,14,%)
A3	Ceftriaxona/ Colistina	2	1 (7,14%)
A4	Multi sensíveis	-	10 (71,43%)
TOTAL			14 (100,0)

¹ Número de classes de antimicrobianos aos quais os isolados apresentaram resistência.

O uso terapêutico de antimicrobianos tem um papel importante na prevenção da disseminação de doenças entre os animais, no tratamento de animais doentes, na promoção do crescimento e na prevenção da transmissão e disseminação de agentes zoonóticos. Porém, desde que a aplicação destas drogas de forma preventiva em animais de produção foi intensificada e tornou rotineira, observa-se um aumento da resistência antimicrobiana. Esse aumento de resistência antimicrobiana tem sido observado em diversos micro-organismos, entre eles *Salmonella*, que tem apresentado resistência aos mais variados agentes antimicrobianos de diferentes classes. A resistência observada através dos resultados desse estudo demonstra que estas bactérias podem ser resistentes a antimicrobianos de importância em medicina veterinária e medicina humana (MION et al., 2014).

A resistência antimicrobiana é observada comumente em cepas de *Salmonella* havendo diversos estudos que relatam um aumento significativo do número de cepas que apresentam resistência às drogas utilizadas no tratamento tradicional de salmoneloses (MENDONÇA, 2016). Esquemas de tratamento tradicionais para *Salmonella* incluem, ampicilina, trimetoprim / sulfametoxazol e amoxicilina, que devem ser considerados a primeira escolha no tratamento devido ao seu baixo custo e eficácia, com a vantagem adicional de poderem ser usados em crianças, incluindo bebês e mulheres grávidas com menos efeitos adversos (GOMEZ et al., 2005).

Medeiros et al. (2011) em um estudo sobre *Salmonella* isolada de carcaças congeladas no Brasil, encontraram 44,8% das cepas resistentes a ampicilina. Foi relatado também no estudo de Mendonça (2016) que os maiores índices de resistência em sorovares de *Salmonella* com impacto na saúde pública, foram para amoxicilina, com 35,3% e para sulfonamida, com 15,7%%. Esse alto número de cepas resistentes às penicilinas, amoxicilina e ampicilina alerta para um grande problema de saúde pública, visto que estas drogas são consideradas de primeira escolha para tratamento de doenças na medicina humana (WHO, 2011).

A preocupação em saúde pública inclui o risco da possível transferência de cepas de *Salmonella* Heidelberg resistentes para o homem, via alimento contaminado, o que poderia levar também à ineficácia do tratamento pelo uso destas drogas. Exemplos são a ampicilina, trimetoprim / sulfametoxazol e amoxicilina que tem sido substituídas no tratamento de salmoneloses por agentes antimicrobianos como as cefalosporina de terceira geração (ceftriaxona, cefotaxima) (GOMEZ et al., 2005; MENDONÇA, 2016).

A ceftriaxona é um antibiótico pertencente à classe dos β -lactâmicos que é a classe mais variada e mais amplamente utilizada de antimicrobianos (MENDONÇA, 2016). É classificada como cefalosporinas de 3ª geração apresentando um espectro de atividade muito mais amplo para bactérias Gram negativas do que as cefalosporinas de 1ª e 2ª geração, ou seja, possuem ação contra as Gram-negativas susceptíveis às cefalosporinas de 1ª e 2ª geração e contra outras estirpes de Gram negativas consideradas multirresistentes (PRESCOTT; HARLEY; KLEIN, 2005). É o antibiótico indicado para o tratamento de crianças, idosos e imunocomprometidos para evitar o aumento da frequência de recidiva, prolongamento do estado de portador e o surgimento de cepas resistentes (GOMEZ et al., 2005).

Além disso, estas cefalosporinas são classificadas pela OMS como “criticamente importantes” (CI), pois cumprem os seguintes critérios: o princípio ativo ou classe de antibióticos é a única terapia possível ou uma das poucas alternativas para o tratamento de infecções graves em humanos, e o antimicrobiano ou classe é utilizado para o tratamento de doenças causadas por micro-organismos transmitidos por fontes não humanas ou doenças causadas por micro-organismos que podem adquirir genes de resistência a partir de fontes não humanas (FAO/WHO, 2009).

No presente estudo, a resistência encontrada frente a ceftriaxona (21,4%), demonstra a redução da sensibilidade de cepas de *S. Heidelberg* a este antimicrobiano. Estudo realizado por Mion et al. (2014) determinou que isolados de *S. Heidelberg* isolados em pontos críticos de abatedouros de frangos de corte em 2005 apresentaram 38,4% de resistência a ceftriaxona, índice que foi ampliado consideravelmente dentre os isolados de 2009, quando 100% das amostras foram resistentes a este princípio ativo. Além disso, Armanini et al. (2017) relataram em cepas de *S. Heidelberg*, oriundas de carne de frango de aves abatidas no estado do Paraná, uma prevalência média de 26,18% de cepas que possuem a presença de genes de resistência relacionados aos beta-lactâmicos.

A ceftriaxona pertence à classe das cefalosporinas, que são antibióticos de última geração, considerada assim, uma das últimas opções para determinadas enfermidades decorrentes de bactérias multirresistentes. Assim, a emergência de bactérias resistentes a ceftriaxona é preocupante, pelo fato de ser utilizada para tratar infecções humanas graves, podendo a resistência a esta droga causar sérias complicações no tratamento, e ainda, limitar o tratamento de gestantes e crianças (MION et al., 2014). Além disso, o uso de cefalosporinas de 3ª geração tem o seu proibido na avicultura brasileira, logo a ocorrência de resistência a ceftriaxona de cepas de *S. Heidelberg* isoladas de amostras de carcaças de frango que foi encontrada nesse estudo indica o uso errôneo dessa classe de antimicrobianos na produção avícola.

A colistina é um antimicrobiano peptídeo catiônico com atividade bactericida que atua contra bactérias Gram-negativas. É amplamente utilizada na medicina veterinária, principalmente na suinocultura para a prevenção e tratamento de infecções causadas por enterobactérias, além de ter em alguns países o seu uso permitido como aditivo zootécnico (MENEGUZZI et al., 2017).

Nas cepas estudadas, a resistência a colistina foi de 14,2%, este resultados se difere de estudos anteriores realizados, como o estudo de Borsoi (2005) em que todas as cepas de *Salmonella* isoladas de carcaça de frango resfriadas nos varejos da região Nordeste do Rio Grande do Sul que foram testadas apresentaram sensibilidade a colistina e ao estudo realizado por Rezende et al. (2005) com resultado em que nenhuma das cepas isoladas de carcaças de frangos de corte abatidos no estado de Goiás, entre elas o sorovar Heidelberg, apresentaram

resistência à colistina. Já no estudo de Figueiredo et al. (2013) ao avaliar isolados de *S. enterica* de amostras alimentares e de produção de aves amostras, suínos e bovinos na região centro de Portugal, 22 % desses isolados mostraram resistência à colistina.

A presença de isolados resistentes a colistina era esperada, visto que no Brasil até o ano de 2016 esse antimicrobiano era utilizado como aditivo zootécnico melhorador de desempenho na composição das rações para aves, bovinos e suínos. Estudos realizados demonstram que os antimicrobianos quando utilizados na produção animal em larga escala para fins melhoradores de desempenho, são realmente capazes de contribuir no surgimento de bactérias resistentes, ocasionando riscos à saúde humana e animal (GARCIA-MIGURA et al., 2014).

Segundo a OMS, a colistina é uma substância antimicrobiana criticamente importante para a saúde humana, sendo uma das últimas opções terapêuticas para determinadas enfermidades decorrentes de bactérias multirresistentes. A detecção de resistência a esse antimicrobiano em *S. Heidelberg* isoladas de humanos e produtos de origem animal é um resultado no mínimo preocupante e deve ser considerado como um alerta em saúde pública, considerando a importância da prevenção da disseminação de bactérias resistentes a antibióticos no ambiente e na cadeia de produção de alimentos (MENEGUZZI et al., 2017). Diante desse cenário, após a avaliação técnico-científico da colistina como melhorador de desempenho e considerando a recomendação da OMS, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) publicou, em 30 de novembro de 2016, a Instrução Normativa 45 proibindo o uso da colistina como aditivo zootécnico melhorador de desempenho na alimentação animal em todo o Brasil (BRASIL, 2016).

O meropenem é um antibiótico pertencente a classe dos carbapenêmicos e são compostos de primeira escolha a serem utilizados em infecções graves, mediadas por *Salmonella* (COAN, 2014). Foi o único antibiótico avaliado nesse estudo a que as cepas apresentaram 100% de sensibilidade. Dados semelhantes foram encontrados no estudo de Pandini et al. (2014), que ao avaliar sorotipos de *Salmonella* spp. isolados de aviários do Paraná, encontrou um resultado de 100% de sensibilidade ao meropenem dos sorotipos de *Salmonella* testados, entre eles o sorovar Heidelberg. Mendonça (2016) também ao analisar em sorovares de *Salmonella* com impacto em saúde pública, isolados de frangos de corte brasileiros

determinou 100% dos isolados avaliados sensíveis ao imipenem, pertencente a mesma classe do meropenem. Esses resultados indicaram uma adequada utilização dessas drogas na produção avícola.

Embora não se tenha encontrado nesse estudo resistência para o meropenem, é importante avaliar constantemente a susceptibilidade de sorovares de *Salmonella* frente a essas drogas para monitorar alterações, e indiretamente, determinar se estes fármacos estão sendo devidamente utilizados. A administração cuidadosa de agentes antimicrobianos e a vigilância contínua são medidas importantes que auxiliam a definir o melhor tratamento e inibem ou dificultam a seleção e disseminação de cepas resistentes, evitando uma restrição ainda maior das opções de tratamento para as salmoneloses (MENDONÇA, 2016).

O perfil de susceptibilidade antimicrobiana predominante observado nesse estudo em cepas de *S. Heidelberg* foi o de cepas multisensíveis (71,43%), que não apresentaram resistência a nenhum dos antimicrobianos avaliados, sendo 28,57% das cepas resistentes a uma ou duas drogas, não havendo isolados com perfil de multirresistência, ou seja, que apresente resistência a três ou mais classes de antimicrobianos. Resultado que difere do estudo realizado por Pandini et al. (2014) que ao avaliar sorotipos de *Salmonella* spp. isolados de aviários do Paraná, encontrou duas cepas do sorovar Heidelberg que apresentaram perfil de multirresistência a quatro antimicrobianos testados, sendo eles: Ácido nalidíxico, Tetraciclina, Cefalotina e Ampicilina; e uma cepa com perfil de multiresistência a cinco antimicrobianos, sendo eles: Cloranfenicol, Ácido nalidíxico, Tetraciclina, Estreptomicina e Trimetoprim-sulfametoxazol. A ocorrência de cepas de *S. Heidelberg* de caráter multirresistente pode estar associada, além da utilização inadequada de antimicrobianos na avicultura industrial, à disseminação de genes de resistência aos antimicrobianos (MENDONÇA, 2016).

Os resultados encontrados neste estudo reforçam também a importância da carne de frango como uma fonte potencial de *S. Heidelberg* resistentes a ceftriaxona e colistina, pois das quatro cepas resistentes a pelo menos um dos antimicrobianos testados, três foram isoladas de carcaças de frango. Uma destas cepas foi resistente a dois antimicrobianos que são considerados criticamente importantes por serem as últimas opções terapêuticas em diversas infecções graves ou causadas por micro-organismos multirresistentes.

Além disso, esse estudo também demonstrou que há disseminação de cepas de *S. Heidelberg* resistentes aos antimicrobianos em diferentes estados no Brasil, pois as amostras que apresentaram resistência a pelo menos um dos antimicrobianos avaliados possuem origem em estados diferentes (a amostra 4 e 6 são provenientes de Santa Catarina, a amostra 5 do Paraná e a amostra 7 de São Paulo).

Apesar da baixa amostragem, os resultados obtidos indicam a necessidade de melhoria nas medidas de prevenção e controle de *Salmonella* no setor avícola e da necessidade de monitoramento da resistência destes micro-organismos, que vem se mostrando cada vez maior e gerando sérios motivos para preocupação (PANDINI et al., 2014). Também demonstram a importância do uso consciente e responsável dos antibióticos na produção animal e na medicina humana (ARMANINI et al., 2017).

O uso de antimicrobianos de forma mais prudente, baseado no conhecimento dos mecanismos de resistência bacteriana, assim como o monitoramento constante de *Salmonella* na cadeia de produção avícola, constituem medidas eficazes para o controle e prevenção destes patógenos, contribuindo com a saúde pública no sentido a evitar a emergência e a disseminação de cepas resistentes, mantendo a eficácia clínica dos antimicrobianos (PANDINI et al., 2014).

5 CONCLUSÕES

Esse estudo mostra que há cepas de *S. Heidelberg* isoladas de amostras provenientes da cadeia de produção de alimentos resistentes a cefalosporinas de terceira geração (ceftriaxona) e polimixina E (colistina). Este resultado alerta uma condição de perigo potencial para saúde pública, podendo ocasionar falhas no tratamento das salmoneloses tanto em animais quanto em seres humanos, agravando quadros clínicos que poderiam ser curáveis, e consequentemente gerando infecções persistentes.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AARESTRUP, F. M. et al. Effect of abolishment of the use of antimicrobial agents for growth promotion on occurrence of antimicrobial resistance in fecal enterococci from food animals in Denmark. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.45, n. 7, p. 2054-2059, 2001.
- ALEKSHUN, M. N.; LEVY, S. B. Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. **Cell**, v. 128, n. 6, p. 1037-1050, 2007.
- ALMEIDA, R. **Surtos por *Salmonella***: dados estatísticos, sintomas e prevenção. Food Safety Brazil. 2015. Disponível em: < <https://foodsafetybrazil.org/surtos-por-salmonella-dados-estatisticos-sintomas-e-prevencoes/> >. Acesso em: 29abril2018.
- ARMANINI, E. H. et al. ***Salmonella* Heidelberg**: emergência de genes de resistência aos betalactâmicos. 2017. Disponível em: < https://www.udesc.br/arquivos/udesc/id_cpmenu/6218/7_15034022001876_6218.pdf >. Acesso em: 09 novembro 2018.
- BAU, D.; SIQUEIRA, M. R.; MOOZ, E. D. ***Salmonella* - agente epidemiológico causador de infecções alimentares**: uma revisão. 2015. Disponível em: <http://www.xxcbcd.ufc.br/arqs/gt6/gt6_72.pdf>. Acesso em: 04 maio 2018.
- BONA, E. A. M. De et al. Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. **Arquivos do Instituto Biológico [online]**, v.81, n. 3, p.218-225, 2014. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1590/1808-1657001192012> >. Acesso em: 04outubro 2018.
- BORSOI, A. **Ocorrência, contagem e resistência antimicrobiana de *Salmonella* isoladas de carcaças de frangos resfriados e pesquisa de *Salmonella* em galpões de frangos de corte**. 2005. 78f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. **Relatório de Pesquisa em Vigilância Sanitária de Alimentos**. Brasília. 2012. 171 p. Disponível em: < <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/395481/Relat%25C3%25B3rioPrebaf-vers%25C3%25A3ofinal-ar2012.pdf/f6bb5296-e633-4f7b-b81f-48a99430da6a> >. Acesso em: 06novembro2018.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa Nº 26, de 09 de julho de 2009**. Aprova o regulamento técnico para a fabricação, o controle de qualidade, a comercialização e o emprego de produtos antimicrobianos de uso veterinário. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 10 jul. 2009, seção 1, p. 14.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa Nº45, DE 22 DE NOVEMBRO DE 2016**. Proibi, em todo o território nacional, a importação e a fabricação da substância antimicrobiana sulfato de colistina, com a

finalidade de aditivo zootécnico melhorador de desempenho na alimentação animal. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 30 nov. 2016, seção 1, nº229, p. 14.

BrCAST -Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST/EUCAST). **Tabelas de pontos de corte para interpretação de CIMs e diâmetros de halos – Version in portuguese of the EUSCAST Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters**. 2017. Disponível em: <<http://brcast.org.br/tabela-pontos-de-corte-clinicos-BrCAST-2017-final.pdf>>. Acesso em 02 novembro 2018.

BRYAN, F. L.; DOYLE, M.P. Health Risks and Consequences of Salmonella and Campylobacter jejuni in Raw Poultry. **Journal of Food Protection**, v. 58, n. 3, p. 326-344, 1995.

CARRAMIÑANA, J.J. et al. High prevalence of multiple resistance to antibiotics in *Salmonella* serovars isolated from a poultry slaughterhouse in Spain. **Veterinary Microbiology**, v.104, n.3, p. 133-139, 2004.

CARVALHO, F.C.T. et al. Susceptibilidade antimicrobiana de *Salmonella* spp. isoladas de fazendas de carciniculturas no Estado do Ceará. **Revista Ciência Agronômica**, v.40, n.4, p.549-556, 2009.

CASTILLA, K. S. **Deteção de genes de virulência em diferentes fagotipos e ribotipos de *Salmonella* Enteritidis utilizando a reação em cadeia da polimerase (PCR)**. 76f. Dissertação(Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal) -Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

CDC – CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Multistate Outbreak of Multidrug-Resistant *Salmonella* Heidelberg Infections Linked to Contact with Dairy Calves (Final Update)**.2017.Disponível em:<<https://www.cdc.gov/salmonella/heidelberg-11-16/index.html>>. Acesso em: 16 dezembro 2018.

CHITTICK, P. et al. Summary of National Reports of foodborn outbreaks of *Salmonella Heidelberg* infections in the United States: clues for disease prevention. **Journal of Food Protection**, v.69, n.5, p. 1150-1153, 2006.

CLSI - CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-third informational supplement**. CLSI M100-S23, Wayne, 2013.

COAN, M. M. **Deteção de genes codificadores de resistência a antimicrobianos de importância clínica em amostras de carne de frango**. 98f. Dissertação (Mestrado em Serviços de Saúde Pública) – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo 2014.

COLLA, F.L. et al. Isolamento de *Salmonella* Heidelberg em diferentes pontos da tecnologia de abate de frangos de corte. **Arquivos do Instituto Biológico [online]**,

v. 79, n. 4, 2012. <Disponível em:
<<http://www.scielo.br/pdf/aib/v79n4/a18v79n4.pdf>>. Acesso em: 02 abril 2018.

CURRIE, A. **Salmonella Heidelberg no Canadá**. 2008. <Disponível em:
http://bvs.panalimentos.org/local/File/INCLUSIONES2008/WHO_Global_%20Salm_Surv_curso_capacit_Lab_OUT2008/Epidemiologia/Exerc%20A1cios/Salmonella%20Heidelberg%20no%20Canad%A0%20Vers%C6o%20aluno%20%20estudo%20de%20cas.pdf>. Acesso em: 30 maio 2018.

DEMEZUK, W.; SOULE, G.; CLARK, C. Phage-based typing scheme for *Salmonella enteric* Serovar Heidelberg, a causative agent of food poisonings in Canada. **Journal of Clinical Microbiology**, v.41, n.9, p.4279-4284, 2003. Disponível em:
<<http://jcm.asm.org/cgi/content/abstract/41/9/4279003>>. Acesso em: 10 maio 2018.

DICKEL, E.L. **Utilização da técnica microbiológica convencional, reação em cadeia pela polimerase (PCR) e ensaio imunoenzimático (ELISA) no monitoramento de Salmonella em carcaças de frango para o controle higiênico sanitário do processo de abate**. 137 f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

FAI, A. E. C. et al. *Salmonella spe Listeria monocytogenes* em presunto suíno comercializado em supermercados de Fortaleza (CE, Brasil): fator de risco para a saúde pública. **Ciência & Saúde Coletiva [online]**, v.16, n. 2, 2011. Disponível em:
<<https://www.scielo.org/article/csc/2011.v16n2/657-662/>>. Acesso em: 26 maio 2018.

FAO / WHO - Food and Agriculture Organization of the United Nations / World Health Organization. **Salmonella and Campylobacter in chicken meat**: meeting report. Microbiological Risk Assessment Series 19, Rome, 56p., 2009.

FARIA, A. M. **Genes de virulência em Salmonella enterica**: descrição, componentes estruturais e métodos de detecção. 37f. Tese (Doutorado em Sanidade Animal, Higiene e Tecnologia de Alimentos) - Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2013.

FELIPE, L. M. **Associação de bactérias da família Enterobacteriaceae e Clostridium estertheticum com a deterioração “blown pack” em cortes cárneos embalados a vácuo**. 86f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2008.

FIGUEIREDO, R. et al. Resistência a antibióticos em isolados de *Salmonella enterica* em alimentos de origem animal. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 108, n. 2, p.39-43, 2013.

FIGUEREDO, F. V. et al. Isolamento de *Salmonella* resistente a antimicrobianos em duas regiões estuarinas do estado do ceará, Brasil. **Revista Arquivos de Ciências do Mar**, v. 48, n. 2, p.49–56, 2015.

GARCIA-MIGURA, L. et al The missing link between consumption and resistance in veterinary medicine. **Veterinary Microbiology**, 2014, v. 170, n. 2, p.1-9, 2014.

GÓMEZ F. I. et al.Sensibilidade y resistencia de las Salmonellas a los antimicrobianos en la ciudad de Cochabamba. **Gaceta Médica Boliviana** **version On-line**, v.28,n.1, 2005. Disponível em: <http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1012-29662005000100002>. Acesso em 26 outubro 2018.

GOULD, I.M. Clinical relevance of increasing glycopeptides MICs against *Staphylococcus aureus*. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 31, n. 2, p. 1-9, 2008.

HOFER, E.; SILVA FILHO, S.J.; REIS, E.M.F. Prevalência de sorovares de *Salmonella* isolados de aves no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.17, n.2, p. 55-62, 1997.

MACHADO, J.B. **A intoxicação por Salmonelas**: multidroga resistente surto. Dicas de Saúde. 2018. Disponível em:< <https://t-bone.org.br/2018/11/a-intoxicacao-por-salmonelas-multidroga-resistente-surto/>>. Acesso em: 16dezembro 2018.

MEDEIROS, M. A. N. et al. Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* in chicken carcasses at retail in 15 Brazilian cities. **Revista Panamericana de Salud Publica**, v. 30, n. 6, p. 555–560, 2011.

MENDONÇA, E. P. **Características de virulência, resistência e diversidade genética de sorovares de *Salmonella* com impacto na saúde pública, isolados de frango de corte no Brasil**. 131f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias)- Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2016.

MENDONÇA, E. P. **Disseminação de *Salmonella* sp. na cadeia produtiva do frango de corte**. 70f. Dissertação (Mestrado em Saúde Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2011.

MENEGUZZI, M. et al. Resistência a colistina em isolados de *Salmonella* de casos clínicos de suínos no Brasil. In: XVIII CONGRESSO DA ABRAVES, 2017, Goiânia, GO. **Anais...** Goiânia: 2017. p. 27-28.

MIMICA, L. M. J.; MENDES, C. M. F.; MIMICA, I. M. Controle laboratorial do tratamento das infecções bacterianas. In: TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. (Ed.). **Microbiologia**. 5 ed. São Paulo: Atheneu, 2008. p. 93-99.

MION, L. et al. Perfil de resistência a antimicrobianos por *Salmonella* Heidelberg isoladas de abatedouro avícola em 2005 e 2009. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.42, n. 1197, 2014.

MOORE J. E. et al. The epidemiology of antibiotic resistance in *Campylobacter*. **Microbes and Infection**, v. 8, n. 7, p. 1955-1966, 2006.

NADVORNY, A.; FIGUEIREDO, D. M. S.; SCHMIDT, V. Ocorrência de *Salmonella* sp em surtos de doenças transmitidas por alimentos no Rio Grande do Sul em 2000. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.32, n.1,p.47-51, 2004.

NASCIMENTO, V.P. et al. Identificação de sorovares de *Salmonella* em cortes e carcaças de frango. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 19., 1997, Rio de Janeiro, RJ. **Anais...**Rio de Janeiro: 1997. p.287-287.

OIE - WORLD ORGANIZATION FOR ANIMAL HEALTH. List of antimicrobials of veterinary importance. **Report of the 75th general session (Resolution nº XXVIII)**. Paris, France, 2007, 25 p.

OLIVEIRA, L. G. de. et al. A importância da *Salmonella* sp. nos sistemas de produção de suínos. **Revista Científica Eletrônica de Medicina veterinária**, v.9, n.18, 2012. Disponível em: <http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/S6KeQj5cx7IFY4V_2013-6-28-18-14-36.pdf>. Acesso em: 07 maio 2018.

OSTROSKY, E. A. et al. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia [online]**, v.18, n. 2, p.301-307, 2008. Disponível em : < http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-695X2008000200026&script=sci_abstract&tlng=pt>. Acesso em: 17 outubro 2018.

PALERMO NETO, J. Os antimicrobianos e a resistência bacteriana. **Avicultura industrial**, n. 07, ano 105, Edição 1235, p. 26-33, 2014. Entrevista concedida a Humberto Luis Marques e Rodolfo Antunes. Disponível em: <http://www.aviculturaindustrial.com.br/noticia/os-antimicrobianos-e-a-resistencia-bacteriana-na-avicultura/20140909083737_Q_039>. Acesso em: 23 outubro 2018.

PANDINI J.A.et al. Ocorrência e perfil de resistência antimicrobiana de sorotipos de *Salmonellaspp.* isolados de aviários do Paraná, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico** , v. 20, n.10 , p. 1-6, 2014.

PERIN, A.P.; BORGA, A.P.B.; BERSOT, L.S. Ocorrência de *Salmonella* sp. e contagem de coliformes termotolerantes em cortes de frango congelados produzidos no estado do Paraná. In: XXV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 2016, Gramado, RS. **Anais...** Gramado: 2016.

PINTO, P. S. A. Aspectos sanitários da salmonelose como uma zoonose. **Revista Higiene Alimentar**, v. 14, n. 73, p. 39-43,2000.

PRESCOTT, L. M.; HARLEY, J. P.; KLEIN, D. A.**Microbiology**. 6th ed. New York: McGraw-Hill Companies, Inc., 2005.

REMONATTO, G. **Correlação entre Concentração Inibitória Mínima e níveis urinários de antimicrobianos para o tratamento de infecções do trato urinário**. 56f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

REZENDE, C.S. et al. Sorovares de *Salmonella* isolados de carcaças de frangos de corte abatidos no Estado de Goiás, Brasil, e perfil de resistência a antimicrobianos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v.100, p.199-203, 2005.

SANTOS, J. R dos. et al. A importância do controle da *Salmonella* na cadeia produtiva de frango de corte. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 12, n. 3, p.167-174, 2013.

SCHWARZ, S., et al. Assessing the antimicrobial susceptibility of bacteria obtained from animals. **Veterinary Microbiology**, v. 141, n. 1, p. 1- 4, 2010.

SHINOHARA, N. k. S.et al. *Salmonella* spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos. **Ciência & Saúde Coletiva [online]**, v. 13, n. 5, p. 1675-1683,2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sciarttext&pid=S1413-81232008000500031>>. Acesso em: 10 maio 2018.

SILVA, E. N.; DUARTE, A. *Salmonella* Enteritidis em aves: retrospectiva no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Avícolas[online]**, v.4, n.2, p.85-100, 2002.. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-635X2002000200001&script=sci_abstract&tlng=pt>. Acesso em: 15 maio 2018.

SILVEIRA, C. S. da. **Suscetibilidade antimicrobiana e virulência de *Salmonella* sp. isolada de água e de moluscos bivalves**. 79f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Centro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2012.

SOUTO, M. de S. M. **Sensibilidade a antimicrobianos de *Escherichia coli* patogênica e *Salmonella* spp. isoladas de fezes de bezerros do Centro Oeste e Alto Paranaíba de Minas Gerais**. 64p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

SOUZA, C. O. et al. Resistência antimicrobiana de *Salmonella* Typhi identificadas no Estado do Pará, Brasil.**Revista Pan-Amazônica deSaúde [online]**, v.1, n. 2, p. 61-65, 2010. Disponível em: < <http://scielo.iec.gov.br/pdf/rpas/v1n2/v1n2a07.pdf> >. Acesso em: 15 maio 2018.

STEPHENS, P. **Para OMS, resistência de bactérias a antibióticos é 'ameaça global'**. BBC. 2014. Disponível em: <https://www.bbc.com/portuguese/noticias/2014/04/140430_resistencia_antibioticos_rb>. Acesso em: 18 maio 2018.

TÉO, C. R. P. A.; OLIVEIRA, T. C. R. M. de. *Salmonella* spp: o ovo como veículo de transmissão e as implicações da resistência antimicrobiana para a saúde pública. **Revista Semina: Ciências Agrárias**, v. 26, n. 2, p. 195-210, 2005.

TESSARI, E. M. C. et al.Ocorrência de *Salmonella* spp. em carcaças de frangos industrialmente processadas, procedentes de explorações industriais do Estado de São Paulo, Brasil. **Ciência Rural**, v.38, n. 9, p. 2557-2560, 2008.

TUNON, G. I. L. et al. Resistência antimicrobiana de *Salmonella* sp. isolada de carne de frango resfriada comercializada em Aracaju, Sergipe. **Boletim Epidemiológico Paulista – BEPA**, v. 5, n. 52, p.4-6, 2008.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. Critically important antimicrobials for human medicine. Categorization for the development of risk management strategies to contain antimicrobial resistance due to non-human antimicrobial use. **Report of the 2nd WHO Expert Meeting held in Copenhagen**. Geneva, Switzerland, mai. 2007, 34 p.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Salmonella**. 2015. Disponível em: <<http://www.who.int/topics/salmonella/en/>>. Acesso em: 21 maio 2018.

World Health Organization. World conference on social determinants of health: meeting report. Rio de Janeiro: WHO; 2011. Disponível em: <http://www.who.int/sdhconference/resources/Conference_Report.pdf>. Acesso em: 23 maio 2018.

WHO– WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Salmonella (non-typhoidal)**. 2016. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/salmonella/general/technical.html>>. Acesso em: 15 dezembro 2018.

YAN, S. S. et al. An overview of Salmonella typing: Public health perspectives. **Clinical and Applied Immunology Reviews**, v. 4, n. 3, p. 189-204, 2004.