



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**FACULDADE DE CEILÂNDIA – FCE/ UNB**  
**CURSO DE FARMÁCIA**

**ANGEISLENIE RICELLE MAGALHÃES RODRIGUES**

**PESQUISA DE *Salmonella spp.* ISOLADAS DE CORTES DE CARNES DE  
FRANGO COMERCIALIZADOS EM SUPERMERCADOS DO DISTRITO FEDERAL**

**BRASÍLIA, DF**

**2018**

ANGEISLENIE RICELLE MAGALHÃES RODRIGUES

**PESQUISA DE *Salmonella spp.* ISOLADAS DE CORTES DE CARNES DE  
FRANGO COMERCIALIZADOS EM SUPERMERCADOS DO DISTRITO FEDERAL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado  
como requisito para obtenção do grau de Bacharel  
em Farmácia, na Universidade de Brasília,  
Faculdade de Ceilândia.

**Orientador: Profa. Dra. Daniela Castilho Orsi**

**Co-orientador: Profa. Dra. Izabel Cristina Rodrigues da Silva**

BRASÍLIA, DF

2018

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

MR696p Magalhães Rodrigues, Angeislenie Ricelle  
PESQUISA DE Salmonella spp. ISOLADAS DE CORTES DE CARNES  
DE FRANGO COMERCIALIZADOS EM SUPERMERCADOS DO DISTRITO  
FEDERAL / Angeislenie Ricelle Magalhães Rodrigues;  
orientador Daniela Castilho Orsi; co-orientador Izabel  
Cristina Rodrigues da Silva. -- Brasília, 2018.  
47 p.

Monografia (Graduação - Bacharel em Farmácia) --  
Universidade de Brasília, 2018.

1. Salmonella spp.. 2. Contaminação de Alimentos. 3.  
Carne de Frango. 4. Antibiograma. 5. Multirresistência. I.  
Castilho Orsi, Daniela , orient. II. Rodrigues da Silva,  
Izabel Cristina, co-orient. III. Título.

ANGEISLENIE RICELLE MAGALHÃES RODRIGUES

**PESQUISA DE *Salmonella spp.* ISOLADAS DE CORTES DE CARNES DE  
FRANGO COMERCIALIZADOS EM SUPERMERCADOS DO DISTRITO FEDERAL**

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientadora: Profa. Dra. Daniela Castilho Orsi  
(FCE/ Universidade de Brasília)

---

Profa. Dra. Izabel Cristina Rodrigues da Silva  
(FCE/ Universidade de Brasília)

---

Prof. Msc. Daniel Oliveira Freire  
(Facudade LS/ Brasília)

BRASÍLIA, DF

2018

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus pela graça que me é dada todos os dias, por ter concedido esse momento único na minha vida e por estar me abençoando sempre mesmo naqueles momentos difíceis e nunca ter deixado eu desistir.

A minha família meu tesouro na terra, na vida, obrigada pelo incentivo e força que me deram com gestos e palavras. Ao meu marido, Nilmar de Sousa e meus filhos Luís Anrichardson Rodrigues de Sousa e Nilmar Rodrigues de Sousa. por torcerem e acreditarem em mim.

As minhas orientadoras Daniela Castilho Orsi e Izabel Cristina Rodrigues da Silva pela dedicada força e vontade de ensinar, instruíram-me e ajudaram a construir esse trabalho esclarecendo dúvidas e indicando o caminho para obter o melhor resultado. E ao Prof. Daniel Oliveira Freire, por ter aceitado fazer parte da banca de avaliação.

Aos amigos que permaneceram comigo nessa fase difícil e estressante. Obrigada a todos!

## RESUMO

A *Salmonella* spp. pertence a família das *Enterobacteriaceae* e é facilmente disseminada no ambiente de produção avícola. Considerando que essa bactéria continua a ser um dos patógenos mais identificados em produtos avícolas expostos ao consumo, o objetivo deste trabalho foi realizar a pesquisa de *Salmonella* spp. de cortes carnes de frango comercializados em supermercados do Distrito Federal. Foram coletadas 30 amostras de cortes de carne de frango expostos para o consumo em supermercados do Distrito Federal no período de Fevereiro a Março de 2018. Foram realizados testes bioquímicos para triagem de *Salmonella* spp. e identificação molecular do gene *invA*. A susceptibilidade das cepas aos antimicrobianos foi avaliada pela técnica de disco difusão, utilizando protocolo recomendado pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute*. No presente estudo, do total de 30 amostras de carne de frango analisadas, 19 amostras (63%) apresentaram contaminação por *Salmonella* spp. confirmadas no teste molecular com identificação do gene *invA*. Os antibióticos aos quais as cepas apresentaram maior resistência foram: amoxicilina com ácido clavulânico (19 cepas resistentes) ou 82,6% das bactérias testadas, tetraciclina (18 cepas resistentes) ou 78,3% das bactérias testadas e sulfonamida (9 cepas resistentes) ou 39,1% das bactérias testadas. E também se observou que 39,1% dos isolados (9 cepas) mostraram-se multirresistentes, isto é, apresentaram resistência a três ou mais antimicrobianos. Os resultados deste estudo mostraram uma alta prevalência de *Salmonella* spp. na carne de frango comercializada em supermercados do Distrito Federal. Fica evidente a necessidade de medidas mais rigorosas de fiscalização para um melhor controle da contaminação da carne de frango por *Salmonella* spp., para assim, garantir um produto com maior segurança alimentar para o consumidor.

**Palavras-chave:** carne de frango, contaminação de alimentos, antibiograma, multirresistência, *Salmonella* spp.

## ABSTRACT

*Salmonella* spp. belongs to the *Enterobacteriaceae* family and is easily disseminated in the poultry production environment. Considering that this bacterium continues to be one of the most identified pathogens in poultry products exposed to consumption, the objective of this work was to carry out the *Salmonella* spp. of cut chicken meats marketed in supermarkets in the Federal District. Thirty samples of chicken meat samples exposed for consumption were collected in supermarkets in the Federal District from February to March 2018. Biochemical tests and molecular analysis of the *invA* gene were performed for *Salmonella* spp identification. The susceptibility of the strains to the antimicrobials was evaluated by the disc diffusion technique, using a protocol recommended by the Clinical and Laboratory Standards Institute. In the present study, of the total of 30 chicken meat samples analyzed, 19 samples (63%) showed contamination by *Salmonella* spp. confirmed in the molecular test with *invA* gene identification. The antibiotics to which the strains showed the highest resistance were: amoxicillin with clavulanic acid (19 resistant strains) or 82.6% of the bacteria tested, tetracycline (18 resistant strains) or 78.3% of the tested bacteria and sulfonamide (9 resistant strains) or 39.1% of the bacteria tested. It was also observed that 39.1% of the isolates (9 strains) were multiresistant, that is, they showed resistance to three or more antimicrobials. The results of this study showed a high prevalence of *Salmonella* spp. in chicken meat marketed in supermarkets in the Federal District. There is a clear need for stricter enforcement measures to better control the contamination of chicken meat with *Salmonella* spp. to ensure a product with greater food safety for the consumer.

**Keywords:** chicken meat, contamination of food, antibiogram, multiresistance, *Salmonella* spp.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
1.1 Produção e consumo de carne de frango no Brasil .....	11
1.3 <i>Salmonella spp.</i> na cadeia produtiva do frango de corte .....	13
1.4 Legislação brasileira .....	16
1.5 Uso da biologia molecular na identificação de <i>Salmonella spp.</i> .....	19
2. OBJETIVOS .....	22
2.1 Objetivo geral.....	22
2.2 Objetivos específicos.....	22
3. JUSTIFICATIVA.....	23
4. RESUMO .....	24
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	26
5.1 Coleta, preparo das amostras e análises microbiológicas .....	26
5.2 Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos das bactérias isoladas .....	27
5.3 Análises moleculares.....	27
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	28
7. CONCLUSÃO .....	34
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DO ARTIGO .....	35
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA REVISÃO DE LITERATURA.....	38
10. ANEXO 1 .....	42
LISTA DE FIGURAS .....	42
11. ANEXO 2 .....	45
Visualização dos resultados da PCR em transiluminador sob luz violeta:.....	45
12. ANEXO 3 .....	46
NORMAS DE SUBMISSÃO PARA A REVISTA HIGIENE ALIMENTAR .....	46



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Sequência do primer e tamanho do produto amplificado na PCR para identificação do gene <i>invA</i> .....	28
<b>Tabela 2.</b> Prevalência de bactérias <i>Salmonella</i> spp. isoladas nas amostras de carne de frango.....	28
<b>Tabela 3.</b> Perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos das bactérias <i>Salmonella</i> spp. isoladas das amostras de carne de frango.....	31
<b>Tabela 4.</b> Número de cepas de <i>Salmonella</i> spp. isoladas de carne de frango com resistência aos antimicrobianos testados.....	32
<b>Tabela 5.</b> Perfis de resistência antimicrobiana das cepas de <i>Salmonella</i> spp. isoladas de carne de frango.....	33

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Triagem para <i>Salmonella</i> spp. com os meios SS e XLD.....	42
<b>Figura 2.</b> TSI – triagem para <i>Salmonella</i> spp.....	42
<b>Figura 3.</b> Cultura pura, nos meios XLD e SS.....	43
<b>Figura 4.</b> FA, Teste bioquímico para confirmação de <i>Salmonella</i> spp.....	43
<b>Figura 5.</b> LI, teste confirmatório para <i>Salmonella</i> spp.....	44
<b>Figura 6.</b> Antibiograma, Técnica kurby-Bauer.....	44
<b>Figura 7.</b> Eletroforese em gel de agarose dos produtos de PCR.....	45

## LISTA DE ABREVIATURAS

APPCC (HACCP, em inglês) – Análises de Perigo e Pontos Críticos de Controle  
ABPA – Associação Brasileira de Proteína Animal  
BHI – Brain Heart Infusion  
DTA – Doenças Transmitidas por Alimentos  
EFSA – Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos  
FA – Fenilalanina  
FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations  
g – gramas  
°C- grau Celsius  
GTA – Guia de Trânsito Animal  
hs – horas  
H<sub>2</sub>S – ácido sulfídrico  
IPS-1(SPI-1, sigla em inglês) – Ilhas de patogenicidade em *Salmonella* spp.  
LIA – Lisina Iron Agar  
MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento  
mL - mililitros  
OMS – Organização Mundial de Saúde  
SCV – Vacúolo que contém *Salmonella* spp.  
SIFs – Filamentos Induzidos por *Salmonella* spp.  
Subsp. – Subespécie  
SS – Salmonella Shigella  
SVE – Serviço Veterinário Estadual  
SVO – Serviço Veterinário Oficial  
SIF – Serviço de Inspeção Federal  
TSI – Três Açúcares e Ferro  
UE – União Europeia  
PCR – Reação em Cadeia de Polimerase  
XLD – ágar Xilose-Lisina-Desoxicolato

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 Produção e consumo de carne de frango no Brasil

Com o aumento na produção mundial de alimentos, torna-se indispensável a segurança alimentar para diminuição dos casos de doenças provocadas por infecções e intoxicações bacterianas provenientes dos alimentos contaminados. Segundo definido pela Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO, 2003), a segurança alimentar tem o objetivo de garantir que o alimento ao ser preparado e/ou consumido não cause dano à saúde do consumidor.

Alimentos contendo alto teor de proteínas de qualidade e baixo custo para a população tem aquecido o mercado e aumentado sua produção como, por exemplo, a carne de frango. O crescente aumento da produção avícola tem despertado a conscientização e o interesse popular sobre os riscos de contaminação da carne de frango com microrganismos patogênicos, e a mídia tem dado ênfase a esse assunto que é de interesse mundial (BRASIL, 2012; NICOLAU, 2016).

No Brasil, a produção de frangos para abate em 2006 foi de aproximadamente 9,3 milhões de toneladas e em 2016 a produção aumentou para aproximadamente 13,0 milhões de toneladas. E o consumo de carne de frango no Brasil per capita em 2007 foi de 37,02 Kg/habitante e em 2016 esse consumo atingiu patamares em torno de 40 kg/habitante. Esse imenso crescimento da avicultura brasileira pode ser explicado pelo fato de o Brasil estar entre os primeiros maiores produtores e o principal exportador mundial de carne de frango (ABPA, 2017).

### 1.2 Características do gênero *Salmonella* spp.

As *Salmonellas* spp. são bactérias pertencentes à família das *Enterobacteriaceae*. São bastonetes Gram-negativos, não produtores de esporos e anaeróbios facultativos. A temperatura de crescimento varia de 5°C a 45°C, com temperatura ótima de 37°C. O pH varia entre 4 e 9, com pH ideal de 7. A atividade de água mínima para crescimento é de 0,94. A maioria dos sorotipos fermentam a glicose com produção de ácido e gás, mas não fermentam a lactose e a sacarose e produzem H<sub>2</sub>S (BRASIL, 2012; KOWALSKI et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2012). O

gênero *Salmonella spp.* é sensível a elevadas temperaturas e é, geralmente, destruído por aquecimento a 60°C, por 15 minutos a 20 minutos, enquanto que o processo de congelamento leva apenas a uma redução significativa do número de células viáveis, não sendo capaz de provocar a destruição completa (NICOLAU, 2016).

A nomenclatura do gênero *Salmonella spp.* ainda gera dúvidas, pois muitos cientistas não entraram em comum acordo de como se referir a esse gênero. O padrão de nomenclatura atualmente e melhor aceito é o proposto por Kauffmann-White, padrão também adotado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) (SILVA et al., 2010). Segundo a nomenclatura de Kauffmann- White, o gênero *Salmonella spp.* subdivide-se em duas espécies: *Salmonella enterica* e *Salmonella bongori*, a primeira é subdividida em seis subespécies, as quais são subdivididas em diversos sorovares ou sorotipos (BRASIL, 2012; KOWALSKI et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2012).

As subespécies podem apresentar sorovares com nomes diferentes por terem alguma diferença nas suas características bioquímicas, patogenicidade ou *habitat*. O gênero *Salmonella spp.* possui 2.579 sorovares: 22 sorovares de *Salmonella bongori* e 2.557 sorovares de *Salmonella enterica*, sendo que a *S. enterica* subsp. *enterica* sorovar *Enteritidis* é a subespécie mais frequentemente envolvida nas doenças humanas, pois têm como habitat o intestino de animais de sangue quente, com destaque para as aves (BRASIL, 2012; KOWALSKI et al., 2011; SILVA et al., 2010).

*S. enterica* subsp *enterica* sorovar *Enteritidis* é uma bactéria presente em frango de corte, podendo ser comumente encontrada no intestino de aves. Por serem encontradas no ambiente de produção avícola e, conseqüentemente, relacionadas a grandes problemas de saúde pública, pelo seu envolvimento com Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) no mundo todo (BRASIL, 2012; KOWALSKI et al., 2011; SILVA et al., 2010). Dentre os alimentos mais incriminados em casos de salmonelose, podem-se citar: os ovos e as carnes de aves, sendo os ovos contaminados e consumidos crus o principal carreador desse patógeno. Outro fator importante da disseminação desta bactéria é a manipulação inadequada de alimentos durante seu preparo, acarretando em contaminação cruzada de alimentos (KOTTWITZ et. al., 2008; PINTO e SILVA, 2009).

A salmonelose é caracterizada como uma gastroenterite febril com diarreia, dor de estômago, febre, dor de cabeça, náuseas, vômitos e astenia. Os primeiros sintomas podem aparecer de 12 a 24 horas após a infecção e persistem normalmente durante cerca de 2 a 7 dias. Esta é a manifestação mais comum e a remissão do quadro geralmente ocorre em dois a três dias, não necessitando de tratamento com antibióticos. Entretanto, algumas vezes a doença pode ser letal em crianças, idosos ou imunocomprometidos, devido à menor resistência destes indivíduos às infecções. Uma pequena porcentagem dos casos de doença invasiva se desenvolve fora do intestino, por exemplo, septicemia e infecções nos órgãos internos e alguns destes casos são fatais (BRASIL, 2012; KOWALSKI et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2012).

No Brasil, a maioria dos casos de surtos alimentares causadores de gastroenterite humana é atribuída à bactéria patogênica *Salmonella spp.* (7,5%) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016). E quase que na totalidade dos casos de gastroenterites em humanos são causadas por *Salmonella spp.* de origem alimentar, mas não necessita de internação do paciente, com isso há uma subnotificação de enfermidade. No Brasil, estima-se que apenas 10% das salmoneloses humanas são notificadas (KOWALSKI et al., 2011).

### **1.3 *Salmonella spp.* na cadeia produtiva do frango de corte**

Sabe-se que *Salmonella spp.* é facilmente disseminada no ambiente de criação avícola, sendo importante para o controle da salmonelose, identificar e eliminar os fatores que favoreçam a multiplicação deste microrganismo. Dentro da cadeia de produção do frango de corte, desde a criação até a mesa do consumidor, a transmissão de *Salmonella spp.* pode ocorrer de diferentes formas e, portanto, sua epidemiologia é bastante complexa, sendo difícil determinar como ocorreu à disseminação do patógeno (BRASIL, 2012; MENDONÇA, 2016).

As aves acometidas por *Salmonella spp.* podem desenvolver a doença clinicamente ou de forma assintomática, albergar esses agentes, tornando-se fonte potencial de salmonelose para seres humanos. A presença de *Salmonella spp.* em frangos, exceto os sorovares *Pullorum* e *Gallinarum*, quase sempre não está relacionada a sintomas clínicos de doenças ou perdas de produtividade na criação.

Estas salmonelas estão presentes no intestino de aves saudáveis, sem prejuízo para o hospedeiro, sendo, porém, capazes de contaminar o meio ambiente e outras aves, através das fezes (BRASIL, 2012; GIASSETTI, 2009).

A complexa epidemiologia da *Salmonella spp.* na cadeia da produção de aves envolve a transmissão vertical, via ovo, desencadeando o nascimento de pintos infectados. Envolve, também, a transmissão horizontal, com a contaminação do ambiente e da ração, além da existência de diferentes espécies animais que constituem reservatórios desta bactéria (BRASIL, 2012; STERZO et al., 2008). Na transmissão horizontal de *Salmonella spp.* na ave, dá-se pelo consumo de água e ração contaminadas com fezes constituindo-se um dos principais veículos de transmissão (GIASSETTI, 2009; MENDONÇA, 2016). As rações já contaminadas com *Salmonella spp.* também são fontes importantes de contaminação dos plantéis. Devido a esta razão as indústrias não deveriam utilizar rações com produtos de origem animal, pois as farinhas de carnes e ossos tem se mostrado fontes comuns de *Salmonella spp.* (SANTOS et al., 2013).

O controle de roedores e insetos constitui importante medida para diminuição da transmissão de *Salmonella spp.* no ambiente de criação avícola (GIASSETTI, 2009; MENDONÇA, 2016; STERZO et al., 2008). A alta frequência de roedores é um fator de risco significativo para o aumento da ocorrência de *Salmonella spp.* em granjas. Isto se deve ao fácil acesso que os roedores têm ao local de armazenamento das rações, podendo contaminar com fezes a ração fornecida para os animais de criação, que se infectam ao consumir a ração contaminada (MENDONÇA, 2016). Os roedores assumem o papel de portadores assintomáticos, por longos períodos (>10 meses), disseminando tais microrganismos entre diferentes áreas (BRASIL, 2012). Os insetos também atuam na disseminação de agentes patogênicos, pois albergam diversas bactérias e estão em contato direto com as fezes das aves (MENDONÇA, 2016).

As ações dos produtores de frango para reduzir o número de frangos portadores de *Salmonella spp.* antes do abate são mais importantes do que as ações durante o abate e processamento da carne de frango com a finalidade de diminuir o percentual de carcaças abatidas contaminadas com *Salmonella spp.* Os produtores vêm adotando vários critérios como: compra de pintos de corte livres de *Salmonella spp.*, controle de *Salmonella spp.* nas rações, programas de

biossegurança, de controle de pragas, de vacinação das matrizes e frangos, assim como aplicação de boas práticas de manejo, adoção de programas de garantia da qualidade e do HACCP (Análises de Perigos e Pontos Críticos de Controle) (GIASSETTI, 2009; MENDONÇA, 2016; STERZO et al., 2008).

Durante as etapas de transporte, abate e processamento dos frangos, pode haver contaminação da carne devido à presença de *Salmonella spp.* nos intestinos desses animais, pele e penas das aves e também devido à contaminação cruzada através dos utensílios utilizados durante estes processos ou pelas mãos dos manipuladores (MENDONÇA, 2016). Durante o abate, as aves são insensibilizadas, escaldadas, depenadas, evisceradas, lavadas interna e externamente e submetidas ao pré-resfriamento, esse processo é feito com o rebaixamento da temperatura das carcaças de aves realizado imediatamente após as etapas de evisceração e lavagem, por sistema de imersão em água gelada e/ou água e gelo ou passagem por túnel de resfriamento (NICOLAU, 2016).

No Brasil, o método mais comum de pré-resfriamento das carcaças é o sistema de imersão em água por resfriadores contínuos, chamados de “chiller”. A temperatura das carcaças no final do processo de pré-resfriamento deve ser igual ou inferior a 7°C. Toleram-se a temperatura de 10°C para as carcaças destinadas ao congelamento imediato. No Brasil, a água de renovação do sistema de pré-resfriamento por imersão pode ser hipoclorada, permitindo-se, no máximo, 5 ppm de cloro livre. Já o nível mínimo de cloro residual presente na água empregada nos estabelecimentos de produtos de origem animal destinados à alimentação humana deve ser de 0,05 ppm (NICOLAU, 2016).

As etapas de resfriamento das carcaças deveriam estar associadas com uma redução na carga bacteriana, no entanto podem atuar de maneira inversa, aumentando a contaminação das carcaças se forem usadas temperaturas inadequadas no “chiller” e cloração deficiente da água. Apesar de todos os cuidados visando garantir a produção da carne de frango com boa qualidade microbiológica, observa-se que *Salmonella spp.* ainda está presente ao longo da cadeia de produção do frango de corte. Desta forma, são necessárias medidas conjuntas, adotando cuidados específicos com as aves no ambiente de criação, como o controle microbiológico das rações oferecidas aos animais, adoção de práticas higiênicas na criação, além de medidas higiênico-sanitárias rigorosas durante o

abate, manuseio e processamento da carne de frango. A adoção de um programa rigoroso de limpeza e desinfecção das instalações e equipamentos e a prevenção de contaminações cruzadas são medidas importantes para a redução dos níveis de contaminação das carcaças de frango com *Salmonella spp.* (MENDONÇA, 2016; SANTOS et al., 2013).

#### **1.4 Legislação brasileira**

No dia 25 de outubro de 2016, o MAPA publicou a Instrução Normativa nº 20 (BRASIL, 2016) e revogou a Instrução Normativa nº 70 (BRASIL, 2003). As novas regras têm por objetivo estabelecer o controle e o monitoramento de *Salmonella spp.* nos estabelecimentos de criação de frangos e perus de corte e nos estabelecimentos de abate de frangos, galinhas, perus de corte e reprodução, registrados no Serviço de Inspeção Federal, a fim de reduzir a prevalência desse agente e estabelecer um nível adequado de proteção ao consumidor.

O controle e monitoramento de *Salmonella spp.* na cadeia de produção de frangos e perus incluirá as seguintes ações: adoção de medidas de controle específicas para *Salmonella Typhimurium* e *Salmonella Enteritidis* por se tratarem de patógenos de grande relevância em saúde pública; adoção de medidas de controle específicas para *Salmonella Pullorum* e *Salmonella Gallinarum* por se tratarem de patógenos de grande relevância em saúde animal; além da gestão de risco, com base no banco de dados dos sorovares de *Salmonella spp.* (BRASIL, 2016).

Os estabelecimentos de criação de frangos e perus de corte deverão implementar um programa de controle e monitoramento para *Salmonella spp.* nos seus plantéis avícolas. Para fins de controle de *Salmonella spp.*, todos os lotes de frangos e perus de corte dos estabelecimentos avícolas serão submetidos a coletas de amostras para a realização de ensaios laboratoriais para detecção de salmonelas. As coletas de amostras serão realizadas o mais próximo possível da data do abate do lote das aves, de tal maneira que os resultados sejam conhecidos antes do seu envio para o abate (BRASIL, 2016).

As amostras coletadas serão: 2 a 4 suabes de arrasto ou propés, agrupados em um pool, umedecidos com meio de conservação, sendo que cada suabe ou propé deverá perfazer 50% da superfície do galpão ou 300 amostras de fezes de



aproximadamente 1 g cada, preferencialmente cecais, coletadas em diferentes pontos distribuídos ao longo do galpão, reunidas em um único pool (BRASIL, 2016).

Após serem coletadas, as amostras serão acondicionadas e enviadas o mais breve possível ao laboratório. No momento da coleta das amostras, as aves não deverão estar sob efeito de agentes antimicrobianos para bactérias gram-negativas e não deverá ser utilizado nenhum produto com ação antimicrobiana no ambiente. As seguintes técnicas laboratoriais para detecção de *Salmonella spp.* serão aceitas: detecção do agente por isolamento em meio de cultura; detecção do agente por métodos moleculares; identificação antigênica do agente e identificação do agente por métodos moleculares (BRASIL, 2016).

Os diagnósticos positivos para *Salmonella spp.* serão encaminhados imediatamente pelo laboratório ao SVE (Serviço Veterinário Estadual) onde se localiza o estabelecimento. Um núcleo será considerado positivo quando pelo menos um ensaio de qualquer galpão do núcleo apresentar diagnóstico positivo para esse agente patogênico. Um núcleo positivo para *Salmonella spp.* implicará que todo lote de frangos ou perus de corte alojado no momento da coleta das amostras será considerado positivo, independentemente do número de aves e galpões existentes no núcleo (BRASIL, 2016).

Diante de resultados positivos, serão adotadas as seguintes ações sanitárias: fermentação das camas de todos os aviários do núcleo ou outro tratamento capaz de inativar as salmonelas; remoção e descarte de toda a cama e do esterco após o tratamento, sendo proibida a reutilização; limpeza e desinfecção das instalações e equipamentos após a remoção de toda a cama e esterco do aviário; adoção de vazio sanitário de, no mínimo, 15 dias depois de concluídos os procedimentos de limpeza e desinfecção dos galpões e investigação para identificar a fonte de infecção e as vias de transmissão para as aves, bem como adoção de um plano de ação para prevenção de novas infecções (BRASIL, 2016).

O trânsito de frangos e perus de corte provenientes de núcleos positivos para *Salmonella spp.* atenderá às seguintes condições: emissão da GTA (Guia de Trânsito Animal) exclusivamente com a finalidade de abate ou destruição ou bloqueio da emissão da GTA pelo SVE até o recebimento das comprovações das ações sanitárias exigidas (BRASIL, 2016).

O SVO (Serviço Veterinário Oficial) determinará a realização de coletas aleatórias a qualquer tempo nos estabelecimentos avícolas, bem como o aumento do número e tipo de amostras a serem coletadas e o número de galpões a serem amostrados para salmonelas, com base nos seguintes critérios: medidas de biossegurança adotadas; ocorrência de casos suspeitos ou positivos na região ou no próprio estabelecimento; investigações epidemiológicas; divergência entre resultados do monitoramento instituído por esta Instrução Normativa e outros testes laboratoriais executados pela empresa. O SVO avaliará o resultado da investigação e poderá determinar a realização de: investigação dos núcleos de reprodução e incubatórios de origem das aves; interdição do núcleo; bloqueio na emissão da GTA e medidas adicionais de controle sanitário (BRASIL, 2016).

Os estabelecimentos de abate de frangos e perus de corte deverão instituir em seus programas de autocontrole ações de contenção e monitoramento de *Salmonella spp.* desde a obtenção da matéria-prima até o produto final. O monitoramento de *Salmonella spp.* em carcaças de frangos e perus será realizado pelos estabelecimentos de abate registrados no SIF por meio de ciclos de amostragem (BRASIL, 2016).

A coleta de amostra seguirá e atenderá os seguintes requisitos: a amostra de frango será composta por uma carcaça inteira coletada de forma aleatória antes da embalagem primária; a amostra de peru será composta por, no mínimo, quinhentos gramas de partes de pele e músculo da região peri-cloacal, do pescoço e das asas, coletadas de uma carcaça selecionada de forma aleatória, antes da embalagem primária e no caso de carcaças não submetidas ao processo de pré-resfriamento por imersão, a coleta será realizada após o resfriamento e antes da embalagem primária. Após serem coletadas, as amostras serão acondicionadas e enviadas o mais breve possível ao laboratório (BRASIL, 2016).

O ciclo de amostragem será composto pelo número (n) de amostras a serem coletadas e o número máximo de amostras positivas aceitáveis (c). Para a interpretação dos resultados, será utilizado o plano de duas classes, no qual deve constar presença ou ausência de *Salmonella spp.* Os estabelecimentos deverão manter o índice de contaminação por *Salmonella spp.* não superior ao número máximo de amostras positivas aceitáveis (c) (para coleta de 8 amostras (n) o número

máximo de amostras positivas aceitáveis (c) será de 2; para n de 26 amostras, c será de 6 e para n de 51 amostras, c será de 12 (BRASIL, 2016).

O ciclo será considerado violado quando o número de amostras positivas for maior que o número aceitável (c). Quando ocorrer a violação de um ciclo oficial, após ser notificado pelo SIF, o estabelecimento de abate deve: realizar investigação para identificar a causa da violação, bem como adotar plano de ação para prevenção de novas violações; revisar os programas de autocontrole, com o objetivo de restabelecer a conformidade em relação a esse agente; e comprovar ao SIF as ações adotadas, por meio de registros auditáveis em até vinte dias a contar da data da notificação (BRASIL, 2016).

Quando ocorrer a violação de dois ciclos oficiais consecutivos, após ser notificado pelo SIF, o estabelecimento de abate deve além das medidas citadas acima, solicitar de seus fornecedores intensificação das ações de biossegurança. Quando ocorrer violação de três ciclos oficiais consecutivos, após ser notificado pelo SIF, também deve: expedir o produto final após ensaio laboratorial de pesquisa de *Salmonella spp.* em laboratórios credenciados; tipificar as culturas para identificação do sorovar e dar destino a produção para tratamento térmico que garanta a eliminação desses patógenos como fabricação de carne mecanicamente separada ou outro processo previamente aprovado pelo MAPA (BRASIL, 2016).

### **1.5 Uso da biologia molecular na identificação de *Salmonella spp.***

A técnica de biologia molecular foi descoberta somente no século XX, a partir desse fato, o processo de uso dessa metodologia foi se aperfeiçoando até o total mapeamento genético de uma célula em estudo. Com a descoberta e mapeamento da dupla fita de DNA, obteve-se também um grande avanço em busca de novos compostos que fossem mais eficazes e precisos no combate a microrganismos patogênicos. Mas com isso, ocorreu também a modificação genética desses patógenos para resistirem e sobreviverem aos ataques dos antibióticos, tornando-se resistentes ou multirresistentes, diminuindo a capacidade desses compostos atingirem o objetivo de causarem a morte e/ou a inibição do crescimento desses microrganismos patogênicos (MENDONÇA, 2016).

A resistência aos antimicrobianos se propaga de uma cepa a outra com tanta rapidez que torna a bactéria virulenta, sendo essas medicações incapazes de detê-las. Outro fator importante é o uso dessas medicações em criação de animais para o consumo alimentar, seja para aumentar a produtividade, prevenir, tratar, ou combater infecções bacterianas nesses animais, pois podem tornar-se resistentes, antes mesmo, de entrar em contato com o organismo humano (MENDONÇA, 2016; ALERTHUM, 2008).

As bactérias patogênicas e não patogênicas se diferenciam devido à expressão de genes que codificam os fatores de virulência, que permitem ao patógeno invadir e desabilitar a imunidade do organismo humano causando doença no hospedeiro (MENDONÇA, 2016). Genes de virulência das salmonelas podem ser cromossômicos e plasmidiais, a maioria está localizado em grandes áreas do cromossomo, chamadas de ilhas de patogenicidade em *Salmonella spp.* (IPS ou SPI, sigla em inglês) e são estudadas cinco dessas regiões (IPS-1, IPS-2, IPS-3, IPS-4 e IPS-5), sendo a mais pesquisada a região IPS-1 (MENDONÇA, 2016; FERREIRA e CAMPOS, 2008).

Há algumas fases em que a bactéria deve traspasar as barreiras imunológicas para poder causar a doença, os genes de virulência estão relacionados com essas fases: adesão, invasão e conseqüentemente lesão nas células intestinais invadidas do hospedeiro. E pode ser que esses genes foram adquiridos ao longo de décadas incorporando-se ao material genético de outras bactérias (MENDONÇA, 2016; BERCHIER JÚNIOR, FREITAS e NETO, 2009).

Segundo relatado por FOLEY et al. (2013), a maquinaria T3SS, está associada a região SPI-1, que é um complexo multiproteína que facilita a captação endotelial e a invasão do patógeno no canal entre o citoplasma bacteriano e a membrana celular do hospedeiro para transportar toxinas e outras proteínas efetoras em células intestinais e reguladoras. Várias proteínas como InvJ, SpaO, PrgI/J, SipA/B/C, SptP, AvrA, SopA/B/D/E/E2, SlrP, e SspH1, são segregadas através de T3SS. Essas proteínas efetoras são translocadas através do T3SS, a proteína SopB, por exemplo, que desempenha um papel importante na ativação das vias secretoras, facilitando a inflamação e alterando o equilíbrio iônico nas células, levando a secreções no trato gastrointestinal e conseqüentemente a diarreia em humanos e bovinos. Um processo conhecido como ruffling da membrana é causada

por proteínas efetoras como a SipA, SipC e SopB, podendo, essas, interagir com a membrana celular hospedeira que se estende para fora do citoesqueleto. Esse processo de ruffling facilita o englobamento de *Salmonellas* e a internalização delas na célula do hospedeiro, esse compartimento está ligado à membrana denominada Vacúolo que Contém *Salmonella* spp. (SCV), uma vez esses vacúolos internalizados em células hospedeiras vão expressar um segundo T3SS, codificado como SPI-2 que são responsáveis por secretarem proteínas para fora do Vacúolo que Contém *Salmonella* spp., levando a formação de filamentos induzidos por *Salmonella* spp. (SIFs).

As ilhas de patogenicidade são importantes para a virulência da célula patogênica e foram relatadas em diferentes sorovares, sendo que, em geral o SPI-1 é necessário para a invasão de células hospedeiras e indução de apoptose de macrófagos; SPI-2 está associado a infecção sistêmica e replicação em macrófagos; SPI-3 estão ligados à sobrevivência desses patógenos dentro dos macrófagos e a capacidade de *Salmonella* spp. se multiplicar em ambientes com baixo teor de magnésio; SPI-4 é necessário para a vida intramacrófica e abriga genes para secreção de toxina e apoptose; o SPI-5 foi encontrado para agrupar genes que codificam múltiplas proteínas efetoras de T3SS; e o SPI-6 que transporta proteínas no ambiente ou células hospedeiras segundo os estímulos de respostas externas (FOLEY et al., 2013).

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Considerando que apesar do programa de controle e monitoramento de *Salmonella spp.* na produção avícola, essa bactéria continua a ser um dos patógenos mais identificados em produtos avícolas expostos ao consumo, o objetivo deste trabalho foi realizar a pesquisa de *Salmonella spp.* em carnes de frango comercializadas em supermercados do DF.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Realizar genotipagem através da técnica de PCR para confirmação de genes de virulência de *Salmonella spp.*
- Realizar teste de susceptibilidade antimicrobiana utilizando o método de difusão com disco.

### 3. JUSTIFICATIVA

Os alimentos são a base de uma boa saúde, mas com o aumento do consumo e produção em grande escala podem ocorrer também contaminações desses alimentos devido as más condições higiênico-sanitárias (MACHADO et al., 2009). As doenças transmitidas por alimentos são um dos maiores riscos para a população, pois podem ocasionar doenças graves se o alimento consumido estiver contaminado com microrganismos patogênicos (FREITAS et al., 2006).

A Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA, 2010) em seu relatório de 2010, indicou que no ano de 2008 a salmonelose foi à doença zoonótica mais comumente relatada entre os seres humanos. Em 2009, em uma análise conduzida em toda a UE sobre a prevalência das bactérias *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* spp. resistentes a meticilina (MRSA) nos suínos reprodutores e seus filhotes, esses patógenos foram encontrados frequentemente em vários Estados-Membros.

As salmoneloses são um dos maiores problemas de saúde pública nos casos de Doenças Transmitidas por Alimentos. Nas aves, o estado de portador de *Salmonella* spp. é um importante fator epidemiológico, sendo as aves de corte uma fonte de contaminação do meio ambiente e dos produtos de origem animal. Adicionalmente, as operações de transporte pré-abate e processamento das carcaças na indústria podem, por meio da contaminação cruzada, aumentar o percentual de positividade (KOWALSKI et al., 2011; SANTOS et al., 2013; STERZO et al., 2008).

Estes fatores têm contribuído para que a *Salmonella* spp. continue a ser um dos patógenos mais identificados em produtos avícolas expostos ao consumo. As carcaças de frango bem como seus cortes e outros derivados chegam ao momento do preparo culinário com percentuais variados de contaminação por *Salmonella* sp. (KOWALSKI et al., 2011; SANTOS et al., 2013; STERZO et al., 2008).

Considerando que recentemente foi introduzido um programa nacional de controle e monitoramento de *Salmonella* spp. na produção avícola, este estudo realizou a pesquisa de *Salmonella* spp. de cortes carnes de frango comercializados em supermercados do Distrito Federal.

#### **4. ARTIGO ELABORADO CONFORME AS NORMAS DE SUBMISSÃO DA REVISTA HIGIENE ALIMENTAR**

#### **PREVALÊNCIA E SUSCEPTIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS DE BACTÉRIAS *SALMONELLA* SPP. ISOLADAS DE CORTES DE CARNE DE FRANGO COMERCIALIZADOS NO DISTRITO FEDERAL**

Angeislenie Ricelle Magalhães Rodrigues, Izabel Cristina Rodrigues da Silva, Daniela Castilho Orsi

Universidade de Brasília (UNB/FCE), Faculdade de Farmácia, Laboratório de Controle de Qualidade, Ceilândia, Brasília - DF, Brasil.

#### **4. RESUMO**

A *Salmonella* spp. pertence a família das *Enterobacteriaceae* e é facilmente disseminada no ambiente de produção avícola. Considerando que essa bactéria continua a ser um dos patógenos mais identificados em produtos avícolas expostos ao consumo, o objetivo deste trabalho foi realizar a pesquisa de *Salmonella* spp. de cortes carnes de frango comercializados em supermercados do Distrito Federal. Foram coletadas 30 amostras de cortes de carne de frango expostos para o consumo em supermercados do Distrito Federal no período de Fevereiro a Março de 2018. Foram realizados testes bioquímicos para triagem de *Salmonella* spp. e identificação molecular do gene *invA*. A susceptibilidade das cepas aos antimicrobianos foi avaliada pela técnica de disco difusão, utilizando protocolo recomendado pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute*. No presente estudo, do total de 30 amostras de carne de frango analisadas, 19 amostras (63%) apresentaram contaminação por *Salmonella* spp. confirmadas no teste molecular com identificação do gene *invA*. Os antibióticos aos quais as cepas apresentaram maior resistência foram: amoxicilina com ácido clavulânico (19 cepas resistentes) ou 82,6% das bactérias testadas, tetraciclina (18 cepas resistentes) ou 78,3% das bactérias testadas e sulfonamida (9 cepas resistentes) ou 39,1% das bactérias testadas. E também se observou que 39,1% dos isolados (9 cepas) mostraram-se



multirresistentes, isto é, apresentaram resistência a três ou mais antimicrobianos. Os resultados deste estudo mostraram uma alta prevalência de *Salmonella* spp. presentes na carne de frango comercializada em supermercados do Distrito Federal. Fica evidente a necessidade de medidas mais rigorosas de fiscalização para um melhor controle da contaminação da carne de frango por *Salmonella* spp., para assim, garantir um produto com maior segurança alimentar para o consumidor.

**Palavras-chave:** Carne de frango. Contaminação de alimentos. Antibiograma. Multirresistência. *Salmonella* spp.

#### 4. ABSTRACT

*Salmonella* spp. belongs to the *Enterobacteriaceae* family and is easily disseminated in the poultry production environment. Considering that this bacterium continues to be one of the most identified pathogens in poultry products exposed to consumption, the objective of this work was to carry out the *Salmonella* spp. of cut chicken meats marketed in supermarkets in the Federal District. Thirty samples of chicken meat samples exposed for consumption were collected in supermarkets in the Federal District from February to March 2018. Biochemical tests and molecular analysis of the *invA* gene were performed for *Salmonella* spp identification. The susceptibility of the strains to the antimicrobials was evaluated by the disc diffusion technique, using a protocol recommended by the Clinical and Laboratory Standards Institute. In the present study, of the total of 30 chicken meat samples analyzed, 19 samples (63%) showed contamination by *Salmonella* spp. confirmed in the molecular test with *invA* gene identification. The antibiotics to which the strains showed the highest resistance were: amoxicillin with clavulanic acid (19 resistant strains) or 82.6% of the bacteria tested, tetracycline (18 resistant strains) or 78.3% of the tested bacteria and sulfonamide (9 resistant strains) or 39.1% of the bacteria tested. It was also observed that 39.1% of the isolates (9 strains) were multiresistant, that is, they showed resistance to three or more antimicrobials. The results of this study showed a high prevalence of *Salmonella* spp. in chicken meat marketed in supermarkets in the Federal District. There is a clear need for stricter enforcement measures to better

control the contamination of chicken meat with *Salmonella* spp. to ensure a product with greater food safety for the consumer.

**Keywords:** chicken meat, contamination of food, antibiogram, multiresistance, *Salmonella* spp.

## 5. MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 Coleta, preparo das amostras e análises microbiológicas

No presente estudo, foram coletadas 30 amostras de diferentes cortes de carne de frango (peito, coxa, asa, coxinha da asa, sobrecoxa e filé de frango), embalados em bandejas e expostos ao consumo em balcões refrigerados, em 12 diferentes supermercados do Distrito Federal. As coletas foram realizadas por 5 semanas consecutivas no período de Fevereiro a Março de 2018. Todas as amostras foram transportadas resfriadas dos locais de estudo para o laboratório no tempo de 30-50 min. e no prazo máximo de 1 hora, após a coleta, foi iniciada as análises microbiológicas. As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Controle de Qualidade da Faculdade de Ceilândia, UNB. Para a pesquisa de *Salmonella* spp., primeiro foram pesadas 25 g de cada amostra em 225 mL de água peptonada 1% (p/v) e após 18 h de incubação em estufa a 36°C (variando +/- 1°C), alíquotas desse caldo de enriquecimento foram transferidas para os caldos seletivos selenito cistina e tetracionato e incubadas a 37°C por 24 h. Após a incubação, alíquotas foram transferidas dos caldos seletivos para os meios Ágar Salmonella Shigella (SS) e Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD). As colônias não fermentadoras de lactose (com ou sem pigmento preto) foram transferidas do SS e do XLD para o meio de cultivo Agar TSI (três açúcares e ferro). Os tubos de TSI que apresentaram reações típicas de *Salmonella* spp. foram novamente repicadas para os meios SS e XLD e levados para a estufa a 37°C por 24 h. As colônias puras isoladas do SS e/ou XLD com característica típica de *Salmonella* spp. foram repicadas nos meios bioquímicos LIA (Lysina Iron Agar) e FA (fenilalanina Agar) e incubadas na estufa bacteriológica entre 18-24 h. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

## 5.2 Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos das bactérias isoladas

A susceptibilidade das cepas aos antimicrobianos foi avaliada pela técnica de disco-difusão (método Kirby-Bauer), utilizando protocolo recomendado pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2013). Os antimicrobianos e as concentrações em microgramas testados foram: amoxicilina com ácido clavulânico (10 µg) (β-lactâmico/penicilina), ceftazidima (30 µg) (β-lactâmico/cefalosporina), cefotaxima (30 µg) (β-lactâmico/cefalosporina), gentamicina (10 µg) (aminoglicosídeo), cloranfenicol (30 µg) (fenicol), imipenem (10 µg) (β-lactâmico/carbapenem), tetraciclina (30 µg) (tetraciclina), ciprofloxacina (5 µg) (quinolona) e sulfonamida (300 µg) (sulfonamida) (NEWPROV®). As zonas de inibição foram medidas e classificadas como sensível e resistente de acordo com recomendações do CLSI (2013).

## 5.3 Análises moleculares

Os isolados suspeitos de serem *Salmonella* spp. foram identificados através da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR), partindo-se de culturas puras ressuspendidas em caldo BHI. As colônias isoladas foram inoculadas, individualmente, e incubadas a 37°C por 18 horas. A extração do DNA foi realizada de acordo com o protocolo proposto no kit comercial Plasmid DNA purification MACHEREY-NAGEL®. A qualidade e a quantidade de DNA extraído foram determinadas por eletroforese em gel de agarose, em comparação com o padrão de massa molecular DNAI/HindIII marcador de 100 pb (JENA®). Após a extração do DNA, a amplificação de fragmentos de genes foi realizada utilizando o termociclador Techne® modelo TC-512. As condições de termociclagem foi de 50°C por 2 min., 95°C por 2 min. e 40 ciclos de desnaturação a 95°C por 15 seg., seguida de 60°C por 30 seg., para o anelamento dos oligonucleotídeos e 72°C por 30 seg. para a extensão dos fragmentos. Os produtos de PCR submetidos à eletroforese em gel de agarose, contendo brometo de etídeo foram visualizados sob iluminação ultravioleta. O marcador de massa molecular utilizado foi o 100 pb DNAI/HindIII (JENA®). Para a identificação de *Salmonella* spp. foi utilizado o fragmento de 445 pares de base referente ao gene *invA*. A Tabela 1 apresenta a sequência do primer para identificação do gene *invA*.

Tabela 1 – Sequência do primer e tamanho do produto amplificado na PCR para identificação do gene *invA*

Primer	Sequência 5´- 3´	Produto amplificado	Gênero
<i>invA</i> forward	GCTGATGCCGGTGAAATTAT		
<i>invA</i> reverse	CGACAAGACCATCACCAATG	445 pb	<i>Salmonella</i> spp.

## 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo, do total de 30 amostras de carne de frango analisadas, 19 amostras (63%) apresentaram o gene *invA* na análise molecular, mas 9 cepas não tiveram a confirmação dos testes bioquímicos (Tabela 2). Foram encontradas 10 amostras de carne de frango (30%) que apresentaram contaminação por bactérias *Salmonella* spp. confirmadas nos testes bioquímicos (descarboxilação da lisina com produção de pigmento preto e no uso da fenilalanina) e na análise molecular (presença do gene *invA*).

Tabela 2 – Prevalência de bactérias *Salmonella* spp. isoladas nas amostras de carne de frango

Cortes de frango	Número de amostras positivas no teste molecular (gene <i>invA</i> )	Número de amostras positivas nos testes bioquímico e molecular (gene <i>invA</i> , LIA e FA)
Sobrecoxa	3	1
Asa	1	1
Coxinha da asa	4	1
Peito	3	3
Coxa e sobrecoxa	5	4
File de frango	1	0
Coxa	2	0
Total	19 (63%)	10 (30%)

Essa diferença de resultado entre o teste bioquímico e teste molecular deve ter acontecido por falha de metodologia no isolamento de colônias puras de

*Salmonella*, sendo que a ocorrência de contaminação com outras bactérias nos testes acaba distorcendo os resultados das provas bioquímicas. O gene *invA* é bem conservado em todos os sorovares de *Salmonella*, sendo um gene muito utilizado para sua detecção pela reação em cadeia da polimerase (PCR) (WHANG et al., 2009). O operon *Inv* (*invasibility*) é composto de sete genes *invABCDEFG*. O gene *invA* é o primeiro no operon, desempenhando função importante na invasão de células epiteliais. Sorotipos de *Salmonella* que não possuem o gene *invA* são incapazes de expressar os genes *invABC*, tornando-os impossibilitados de invadir células de mamíferos (OLIVEIRA et al., 2013). E no estudo de OGUNREMI et al. (2017), que desenvolveu uma PCR multiplex para identificar os dois sorovares mais comuns de *Salmonella* causadores de doenças transmitidas por alimentos no Canadá (*Enteritidis* e *Typhimurium*), o gene *invA* foi detectado em todos os isolados de *Salmonella* selecionados no início do estudo (n = 194) e provou ser um marcador confiável.

Ao comparar resultados encontrados na literatura, observou-se que há grande variação na frequência de isolamento de *Salmonella* spp. em carnes de frango. Essas diferentes prevalências podem ser influenciadas por variáveis geográficas e temporais, pelas condições higiênicas dos estabelecimentos de abate de onde essas amostras foram adquiridas, pela maior manipulação dos cortes quando comparados às carcaças e pela metodologia de coleta das amostras. Para a produção de carcaças inteiras, as mesmas são embaladas logo após saírem do sistema de resfriamento de carcaças. Já para a produção de cortes, após saírem do sistema de resfriamento, as carcaças são conduzidas para as salas de corte, onde são porcionadas. Nesse processo, principalmente pelo contato de um corte contendo *Salmonella* spp. com superfícies de equipamentos e também com as mãos dos manipuladores pode ocorrer a disseminação do patógeno para outros cortes (CHIA et al., 2009; KUSUMANINGRUM et al., 2003).

No trabalho de PERIN (2017), foram analisadas 300 amostras congeladas de cortes de frango (asa, perna, peito e frango a passarinho) nas apresentações de bandeja e compradas em supermercados. Todos os cortes eram provenientes de abatedouros localizados no estado do Paraná. O percentual de ocorrência de *Salmonella* spp. foi de 31,5% (95 amostras positivas de 300). No trabalho de SIRIKEN et al. (2015) foram coletadas 150 amostras de carne de frango em

supermercados de Samsun na Turquia e *Salmonella* spp. foi detectada em 64 amostras (42,7%). No trabalho de CARDOSO et al. (2015) foram analisadas carcaças de frango resfriadas, provenientes de diferentes abatedouros comerciais do Estado de São Paulo. Em 2009 e 2010 foram analisadas 93 e 94 amostras de carcaças de frango e verificou-se a positividade de *Salmonella* spp. em 30 amostras (32,3%) e 24 amostras (25,5%), respectivamente.

Outros trabalhos na literatura relataram um percentual menor de positividade de *Salmonella* spp. em amostras de carne de frango. CARVALHO e CORTEZ (2005) analisaram 35 amostras de carne de frango (peito e coxa) procedentes de diferentes frigoríficos da região Noroeste do Estado de São Paulo e relataram 8 amostras (23%) contaminadas com *Salmonella* spp. No Estado de Goiás, REZENDE et al. (2005), pesquisaram 96 amostras de carcaças de frango e isolaram *Salmonella* spp. em 19 amostras (19,8%). No trabalho de BRITO et al. (2010) foram colhidas 40 amostras de carcaças de frango *in natura* comercializadas em mercados públicos do Município de São Luís, MA. Do total de amostras analisadas, 5 amostras (12,5%) estavam contaminadas por *Salmonella* spp.

A maioria dos trabalhos citados acima (BRITO et al., 2010; CARDOSO et al., 2015; CARVALHO e CORTEZ, 2005; PERIN, 2017) confirmaram *Salmonella* por sorotipificação e no trabalho de SIRIKEN et al. (2015), que relatou o maior percentual de isolamento de *Salmonella* (42,7%), as bactérias foram confirmadas pela presença do gene *invA*.

O perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos de 23 cepas de *Salmonella* spp. isoladas das amostras de carne de frango está apresentado na Tabela 3. Os antibióticos aos quais as cepas apresentaram maior resistência foram: amoxicilina com ácido clavulânico (19 cepas resistentes) ou 82,6% das bactérias testadas, tetraciclina (18 cepas resistentes) ou 78,3% das bactérias testadas e sulfonamida (9 cepas resistentes) ou 39,1% das bactérias testadas. Todos estes antimicrobianos são pertencentes às classes de uso veterinário exclusivo em terapêutica, sendo vedada a sua utilização como melhoradores de desempenho ou como conservantes de alimentos para animais (BRASIL, 2009).

Tabela 3 – Perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos das bactérias *Salmonella* spp. isoladas das amostras de carne de frango

Antibióticos	S n (%)	I n (%)	R n (%)	*HALO S (mm)	*HALO I (mm)	*HALO R (mm)
Amoxicilina	4 (17,4)	0	<b>19 (82,6)</b>	>18	-	< 18
Sulfonamida	12 (52,2)	2 (8,7)	9 (39,1)	>17	12-17	< 12
Gentamicina	<b>22 (95,7)</b>	1 (4,3)	0	>15	12-15	< 12
Tetraciclina	4 (17,4)	1 (4,3)	<b>18 (78,3)</b>	>21	17-21	< 17
Cloranfenicol	17 (73,9)	6 (26,1)	0	>18	12-18	< 12
Ciprofloxacina	<b>21 (91,3)</b>	2 (8,7)	0	>21	15-21	< 15
Imipenem	18 (78,3)	3 (13,0)	2 (8,7)	>23	19-23	< 19
Ceftazidima	12 (52,2)	6 (26,1)	5 (21,7)	>26	22-26	< 22
Cefotaxima	12 (52,2)	8 (34,8)	3 (13,0)	>21	17-21	< 17

S = sensível; I = intermediário; R = resistente; n = número de cepas; % = porcentagem em relação ao total de 23 cepas.

\* De acordo com a CLSI, 2013.

Resultados semelhantes foram reportados por PERIN (2017), onde dos 98 isolados de *Salmonella* spp., os maiores índices de resistência foram observados para tetraciclina (94%) e amoxicilina com ácido clavulânico (84%). Resultados semelhantes também foram reportados por RIBEIRO et al. (2011), encontrando 90% dos isolados de *Salmonella* spp. resistentes a tetraciclina e 60% dos isolados de *Salmonella* spp. resistentes a ampicilina. No estudo de MENDONÇA (2016), também foram relatados resultados parecidos de susceptibilidade aos antimicrobianos de 51 cepas de *Salmonella* spp. isoladas de frango de corte e os maiores índices de resistência foram para amoxicilina com 35,3% das cepas resistentes e sulfonamida com 15,7% das cepas resistentes.

O alto número de cepas resistentes às penicilinas como amoxicilina e ampicilina chama a atenção para um grande problema de saúde pública, visto que estas drogas são consideradas de primeira escolha para tratamento de muitas doenças na medicina humana (WHO 2011). Alguns estudos anteriores realizados no Brasil relataram uma alta frequência de resistência a sulfonamida em *Salmonella* (GHILARDI et al. 2006, MEDEIROS et al. 2011). No Brasil, as tetraciclina são proibidas como aditivos na alimentação animal desde 1998 (BRASIL, 2009; VOSS-

RECH et al., 2015). Porém, de acordo com LAI et al. (2014), na China o aumento da resistência à sulfonamida e tetraciclina se deve, provavelmente, à utilização destes antimicrobianos na alimentação animal como promotores de crescimento.

A Tabela 4 apresenta as cepas de *Salmonella* spp. isoladas de carne de frango com resistência aos antimicrobianos testados. Todas 23 as cepas de *Salmonella* spp. foram resistentes a pelo menos um antimicrobiano. Dez cepas foram resistentes a 2 antimicrobianos (43,5%). E também se observou que 39,1% dos isolados (9 cepas) mostraram-se multirresistentes, isto é, apresentaram resistência a três ou mais antimicrobianos.

Tabela 4 – Número de cepas de *Salmonella* spp. isoladas de carne de frango com resistência aos antimicrobianos testados

Número de cepas	Cepas (%) <sup>*</sup>	Números de antimicrobianos aos quais as cepas apresentaram resistência
1	4,3	6
1	4,3	5
3	13,0	4
4	17,4	3
10	43,5	2
4	17,4	1
23	100	Total

\* % = porcentagem em relação ao total de 23 cepas.

No estudo de PERIN (2017), 86,7% dos isolados (85 cepas do total de 98 cepas) mostraram-se multirresistentes, isto é, apresentaram resistência a três ou mais classes de antimicrobianos. Resultado idêntico foi descrito por ZIECH et al. (2016), os quais encontraram 86% dos isolados de *Salmonella* spp. isoladas de ambientes de abate de frango no Paraná estavam com multirresistência. Bactérias *Salmonella* spp. multirresistentes são um problema mundial enfrentado a cerca de 30 anos. Portanto, o monitoramento contínuo da sua prevalência e resistência em alimentos é necessário devido às implicações para a saúde pública e o potencial risco de disseminação de microrganismos resistentes (HUR et al., 2012).

A Tabela 5 apresenta os perfis de resistência antimicrobiana das cepas de *Salmonella* spp. isoladas de carne de frango. Treze perfis de resistência foram identificados, sendo os perfis mais frequentes foram as cepas com resistência a



amoxicilina e tetraciclina (30,4% dos isolados), cepas com resistência somente a amoxicilina (13,0% dos isolados) e cepas com multirresistência a amoxicilina, sulfonamida, cefotaxima e tetraciclina (13,0% dos isolados).

No estudo de MENDONÇA (2016) foram identificados 33 perfis de resistência para cepas de *Salmonella* enteritidis isoladas de carne de frango. Das 111 cepas testadas, 36 cepas (32,4%) apresentaram multirresistência. De acordo com MENDONÇA (2016) a ocorrência de cepas 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) enfatiza a importância de caracterizar os clones multirresistentes quanto a sua capacidade de albergar e disseminar genes de resistência a antimicrobianos.

Tabela 5 – Perfis de resistência antimicrobiana das cepas de *Salmonella* spp. isoladas de carne de frango

Perfis	Resistência antimicrobiana	Número de antimicrobianos*	Número de cepas (%)**
1	<b>AMC, SUL, TET, CAZ,CTX e IMP</b>	<b>6</b>	<b>1 (4,3)</b>
2	<b>AMC, SUL, TET e IMP</b>	<b>4</b>	<b>1 (4,3)</b>
3	<b>AMC, SUL, TET, CAZ</b>	<b>4</b>	<b>3 (13,0)</b>
4	<b>TET, CAZ e CTX</b>	<b>3</b>	<b>1 (4,3)</b>
5	<b>AMC, SUL, TET</b>	<b>3</b>	<b>1 (4,3)</b>
6	<b>AMC, TET e CTX</b>	<b>3</b>	<b>1 (4,3)</b>
7	<b>AMC, SUL e TET</b>	<b>3</b>	<b>1 (4,3)</b>
8	AMC e TET	2	7 (30,4)
9	AMC e CAZ	2	1 (4,3)
10	SUL e TET	2	1 (4,3)
11	AMC e SUL	2	1 (4,3)
12	AMC	1	3 (13,0)
13	SUL	1	1 (4,3)

\* Número de antimicrobianos aos quais as cepas apresentaram resistência; Número de cepas (%)\*\* = número de cepas com perfil de resistência e porcentagem em relação ao total de 23 cepas; AMC = amoxicilina, SUL = sulfonamida, TET = tetraciclina, CLO = cloranfenicol, CAZ = ceftazidima, CTX = cefotaxima, GEN = gentamicina, IMP = imipenem.

## 7. CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo demonstraram uma alta prevalência de *Salmonella* spp. na carne de frango comercializada nos supermercados do Distrito Federal. Percebe-se um papel importante do mecanismo de virulência das bactérias para uma rápida disseminação de fenótipos resistentes a múltiplas drogas. Os dados apresentados neste estudo demonstraram que as amostras de carne de frango de varejo estavam contaminadas com *Salmonella* spp., portanto, a carne de frango pode ser um veículo potencial de transmissão dessas bactérias para os seres humanos. Considerando que recentemente foi introduzido um programa nacional de controle e monitoramento de *Salmonella* spp. na produção avícola, fica evidente a necessidade de medidas mais rigorosas de fiscalização para obter um melhor controle da contaminação da carne de frango por *Salmonella* spp., para assim, garantir um produto com maior segurança alimentar para o consumidor.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DO ARTIGO

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, DF, 10 jul. 2009, Seção 1, p. 14.

BRITO, D. A. P.; ALVES, L. M. C.; COSTA, F. N. Detecção de *Salmonella albanys*, *Staphylococcus* coagulase positivos e micro-organismos mesófilos em carcaças de frango *in natura*, **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 77, n. 1, p. 149-152, 2010.

CARDOSO, A. L. S. P. et al. Ocorrência de *Salmonella* spp. em carcaças de frango provenientes de abatedouros do estado de São Paulo, Brasil, no período de 2000 a 2010, **Revista Científica de Medicina Veterinária**, n. 24, 2015.

CARVALHO, A. C. F. B.; CORTEZ, A. L. L. *Salmonella* spp. em carcaças, carne mecanicamente separada, linguiças e cortes comerciais de frango, **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 6, 2005.

CHIA, T. W. R.; GOULTER, R. M.; MCMEEKIN, T.; DYKES, G. A.; FEGAN, N. Attachment of different *Salmonella* serovars to materials commonly used in a poultry processing plant. **Food Microbiology**, v. 26, n. 8, p. 853–859, 2009.

EFSA (Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos). 2010. **Relatórios sobre zoonoses e surtos com origem nos alimentos em toda a UE**, agentes zoonóticos e surtos alimentares na União Europeia em 2008. EFSA J 8 (1): 1496.

GHILARDI, A. C.; TAVECHIO, A. T.; FERNANDES, S. A. Antimicrobial susceptibility, phage types, and pulse types of *Salmonella* Typhimurium, in São Paulo, Brazil. **Mem. Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, n. 3, p. 281-286, 2006.

HUR, J.; JAWALE, C.; LEE, J. H. Antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from food animals: A review. **Food Research International**, v. 45, p. 819–830, 2012.

KUSUMANINGRUM, H. D.; RIBOLDI, G.; HAZELEGER, W. C.; BEUMER, R. R. Survival of foodborne pathogens on stainless steel surfaces and cross-contamination to foods. **International Journal of Food Microbiology**, v. 85, p. 227–236, 2003.

CLSI, **Clinical and Laboratory Standards Institute** 950 West Valley Road, Suite 2500 Wayne, PA 19087 USA P: 610.688.0100 F: 610.688.0700 www.clsi.org

LAI, J.; WU, C.; WU, C.; QI, J.; WANG, Y.; WANG, H.; LIU, Y.; SHEN, J. Serotype distribution and antibiotic resistance of *Salmonella* in food-producing animals in Shandong province of China, 2009 and 2012. **International Journal of Food Microbiology**, v. 180, p.30-38, 2014.

MEDEIROS, M. A. N.; OLIVEIRA, D. C. N.; RODRIGUES, D. P.; FREITAS D. R. C. Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* in chicken carcasses at retail in 15 Brazilian cities. **Rev. Panam. 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 frangos de corte no Brasil**, Tese de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, da Faculdade de Medicina Veterinária, da Universidade Federal de Uberlândia, 132 p., 2016.

OGUNREMI, D. et al. Evaluation of a Multiplex PCR assay for the identification of *Salmonella* serovars Enteritidis and Typhimurium using retail and abattoir samples, **Journal of Food Protection**, v. 80, n. 2, p. 295-301, 2017.

PERIN, A. P. **Ocorrência e quantificação de *Salmonella* sp. em cortes de frango congelados: levantamento epidemiológico no estado do paraná e perfil de suscetibilidade a antimicrobianos**. Disserta o (Mestrado), Universidade Federal do Paraná, 103 p., 2017.

REZENDE, C.S.M. 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, n. 555-556, p. 199-203, 2005.

RIBEIRO, V. B.; LINCOPAN, N.; LANDGRAF, M.; FRANCO, B. D. G. M.; DESTRO, M. T. Characterization of class 1 integrons and antibiotic resistance genes in multidrug-resistant *Salmonella enterica* isolates from foodstuff and related sources. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 42, n. 2, p. 685-692, 2011.

SIRIKEN, B.; TÜRK, H.; YILDIRIM, T.; DURUPINAR, B.; EROL, I. Prevalence and characterization of *Salmonella* isolated from chicken meat in Turkey, **Journal of Food Science**, v. 80, n. 5, p. 144-150, 2015.

VOSS-RECH, D.; VAZ, C. S. L.; ALVES, L.; COLDEBELLA, A.; LEÃO, J. A.; RODRIGUES, D.P.; BACK, A. A temporal study of *Salmonella enterica* serotypes from broiler farms in Brazil. **Poultry Science**, v. 94, n. 3, p. 433-441, 2015.

WHO, World Health Organization, **Critically Important Antimicrobials for Human Medicine**. Rev. Geneva: Switzerland, 2011.

ZIECH, R. E.; LAMPUGNANI, C.; PERIN, A. P.; SERENO, M. J.; SFACIOTTE, R. A. P.; VIANA, C.; SOARES, V. M.; PINTO, J. P. A. N.; BERSOT, L. S. Multidrug resistance and ESBL-producing *Salmonella* spp. isolated from broiler processing plants. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 1, p. 191-195, 2016.

## 9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA REVISÃO DE LITERATURA

ABPA. 2016. Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório anual. 2016.** Disponível em: <[http://abpa-br.com.br/storage/files/versao\\_final\\_para\\_envio\\_digital\\_1925a\\_final\\_abpa\\_relatorio\\_anual\\_2016\\_portugues\\_web1.pdf](http://abpa-br.com.br/storage/files/versao_final_para_envio_digital_1925a_final_abpa_relatorio_anual_2016_portugues_web1.pdf)> Acesso em: 16.10.2017

ABPA. 2017. Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório anual 2017.** Disponível em: <[http://abpa-br.com.br/storage/files/3678c\\_final\\_abpa\\_relatorio\\_anual\\_2016\\_portugues\\_web\\_reduzido.pdf](http://abpa-br.com.br/storage/files/3678c_final_abpa_relatorio_anual_2016_portugues_web_reduzido.pdf)> Acesso em: 17.10.2017

ALTERTHUM, F. Mecanismo de ação dos antibacterianos e mecanismos de resistência. In: TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. (Ed.). **Microbiologia**. 5 ed. São Paulo: Atheneu, 2008. p. 79-85.

BERCHIERI JÚNIOR, A.; FREITAS NETO, O. C Salmoneloses. In: BERCHIERI JÚNIOR, A. et al. (Ed.). **Doenças das aves**. 2 ed. Campinas: Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2009. p. 435-454.

BRASIL. 2016. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 20, 21 outubro de 2016. **Estabelece o controle e o monitoramento de *Salmonella* spp. nos estabelecimentos avícolas comerciais de frangos e perus de corte e nos estabelecimentos de abate de frangos, galinhas, perus de corte e reprodução, registrados no Serviço de Inspeção Federal (SIF), com objetivo de reduzir a prevalência desse agente e estabelecer um nível adequado de proteção ao consumidor**, Diário Oficial da União, Brasília. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/inspecao/produtos-animal/controle-de-patogenos/salmonella>>

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Relatório do monitoramento da prevalência e do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos em enterococos e salmonelas isolados de carcaças de frango**

**congeladas comercializadas no Brasil**, Programa Nacional de Monitoramento da Prevalência e da Resistência Bacteriana em Frango. Brasília, 2012.171 p.

BRASIL. 2003. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 70, 10 outubro de 2003. **Dispõe sobre o Programa de Redução de Patógenos - Monitoramento Microbiológico no Controle da *Salmonella* sp. em carcaças de frangos e perus**. Diário Oficial da União, Brasília.

EFSA, Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos, **Relatório Anual, 2010**. Disponível em: [https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/corporate\\_publications/files/ar09pt%2C0.pdf](https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/corporate_publications/files/ar09pt%2C0.pdf)

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Recommended international code of practice general principles of food hygiene**, v. 4, p. 1-31, 2003. Disponível em: <http://www.mhlw.go.jp/english/topics/importedfoods/guideline/dl/04.pdf>

FERREIRA, E. O.; CAMPOS, L. C. *Salmonella*. In: TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. (Ed.). **Microbiologia**. 5 ed. São Paulo: Atheneu, 2008. p. 329-338.

FOLEY, S. L. et al. *Salmonella* pathogenicity and host adaptation in chicken-associated serovars. **Microbiology And Molecular Biology Reviews**, v. 77, n. 4, p. 582-607, 2013.

FREITAS, A.K. et al. **Características da carcaça de carne e perfil dos ácidos graxos de novilhos Nelore inteiros ou castrados em duas idades**. 2006. 68 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

GIASSETTI, A. M. ***Salmonella* spp. em carcaça de aves**, Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, SP, 2009.

KOTTWITZ, L. B. M.; BACK, A.; LEÃO, J. A.; ALCOGER, I.; KARAN, M.; OLIVEIRA, T. C. R. M. Contaminação por *Salmonella* spp. em uma cadeia de produção de ovos de uma integração de postura comercial. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n.2, p.496-498, 2008.

KOWALSKI, L. H. et al. Salmoneloses emergentes de origem aviária. **PUBVET**, v. 5, n. 34, 2011.

MACHADO, J. R.; MARSON, J.M.; OLIVEIRA, A. C.S.; SILVA, P.R.; TERRA, A.P.S. **Avaliação microbiológica das mãos e fossas nasais de manipuladores de alimentos da unidade de alimentação e nutrição de um hospital universitário**. Revista Medicina, Ribeirão Preto – USP, v. 42, n.4, p.461-465, 2009.

MARQUES, Marilis So Valle. **Biologia Molecular e Genética Bacteriana**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 2012. 348 p.

MENDONÇA, E. P. **Características de virulência, resistência e diversidade genética de sorovares de *Salmonella* com impacto na saúde pública, isolados de frangos de corte no Brasil**, Tese de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, da Faculdade de Medicina Veterinária, da Universidade Federal de Uberlândia, 132 p., 2016.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, **Surto de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil**, 2016. Disponível em: <<http://u.saude.gov.br/images/pdf/2016/junho/08/Apresenta----o-Surtos-DTA-2016.pdf>> Acesso em: 10.10.2017

NICOLAU, J. P. **Controle de *Salmonella* sp. em carcaças de frango pelo uso de descontaminantes químicos durante o processo de abate e as consequências na qualidade da carne**, Tese de Doutorado, Faculdade de Medicina Veterinária – Unesp, Campus de Araçatuba, 2016.



OLIVEIRA, A. P. et al. *Salmonella* sp. e o abate de frangos: pontos críticos de controle, **Enciclopédia Biosfera**, v.8, n. 14, p. 865-875, 2012.

PINTO, A. T.; MENDONÇA, A. D.; SILVA, E. N. Isolated or associated experimental contamination of albumen and egg yolk for *Salmonella* Enteritidis and *Escherichia coli* – influence of temperature and storage time. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.1, p.128-134, 2009.

SANTOS, J. R. 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.

SILVA, M. A.; MARVULO, M. F. V.; MOTA, R. A.; SILVA, J. C. R. A importância da ordem Ciconiiformes na cadeia epidemiológica de *Salmonella* spp. para a saúde pública e a conservação da diversidade biológica. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, n.7, p.573- 580, 2010.

STERZO, V. et al. Salmoneloses aviárias. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 12, n. 2, p. 129-138, 2008.

WATSON, James D.. **DNA: O segredo da vida**. São Paulo: Companhia das Letras, 2007. 470 p.

## 10. ANEXO 1

### LISTA DE FIGURAS



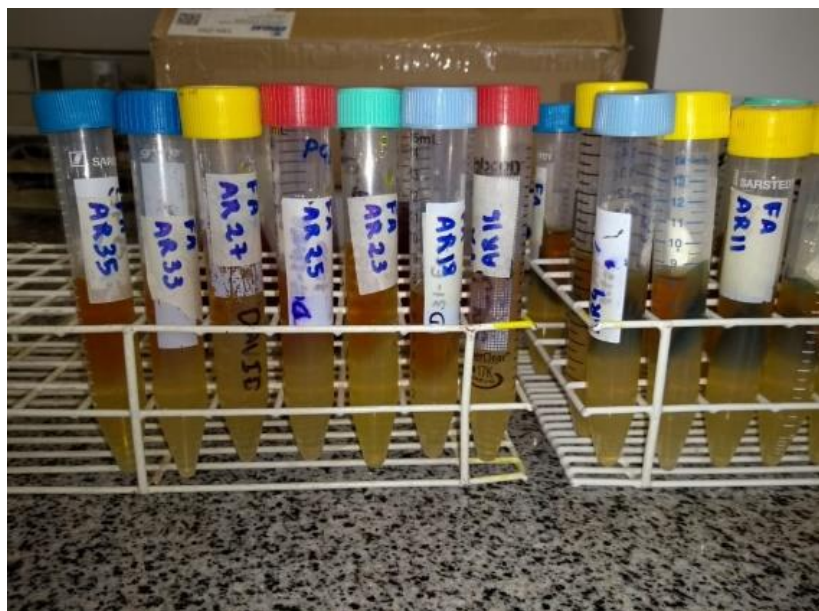
**Figura 1.** Triagem para *Salmonella* spp. com os meios XLD e SS



**Figura 2.** TSI – cepas suspeitas de *Salmonella* spp.



**Figura 3.** Cultura pura, nos meios XLD e SS



**Figura 4.** FA, Teste bioquímico para confirmação de *Salmonella* spp.



**Figura 5.** LIA, teste confirmatório para *Salmonella* spp.



**Figura 6.** Antibiograma, técnica Kurby-Bauer.

## 11. ANEXO 2

Visualização dos resultados da PCR em transiluminador sob luz violeta:

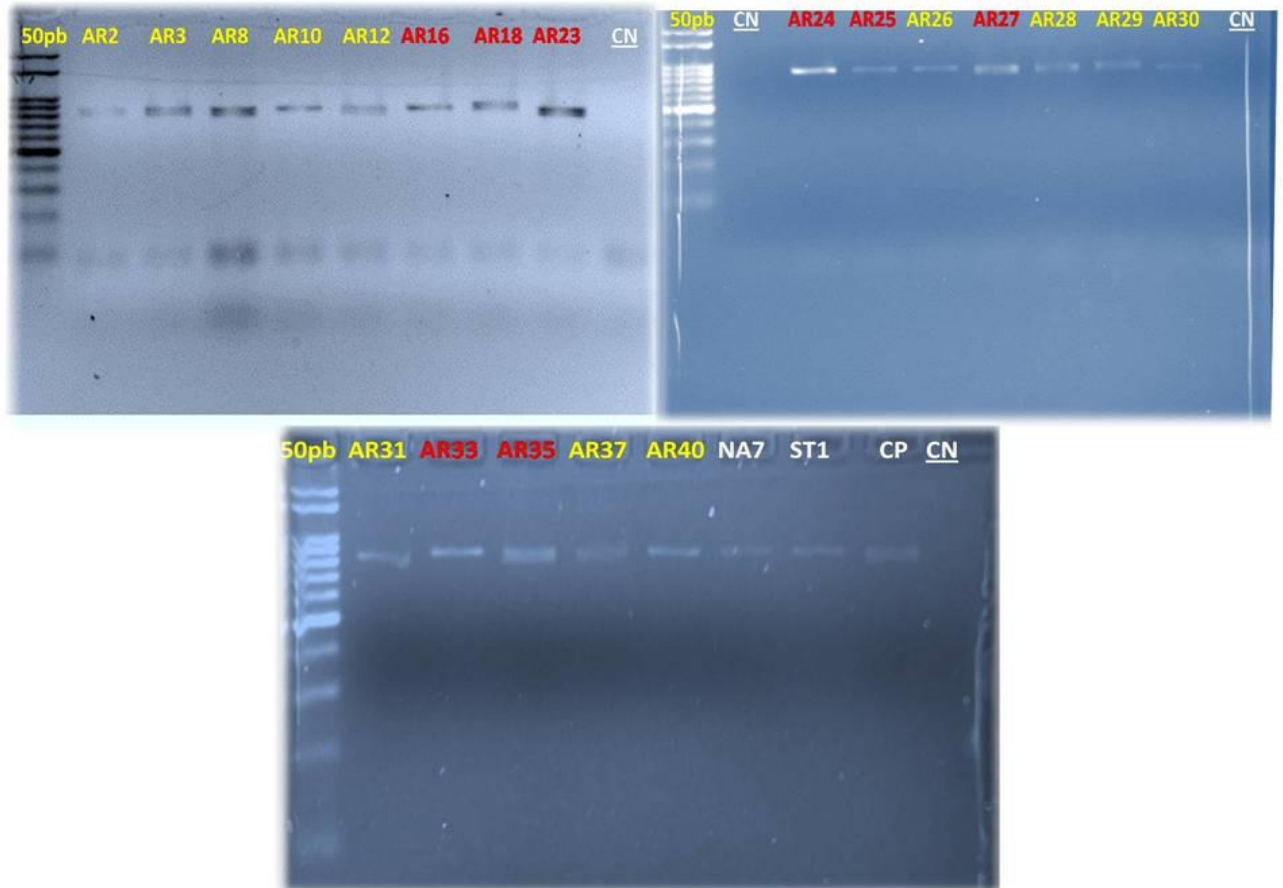


Figura 7. Eletroforese em gel de agarose dos produtos de PCR qualitativo para a presença do *invA* de *Salmonella*; M = marcador de 100 pb; AR2 a AR40 = amostras deste estudo com amplicons de de *invA* (445 pb), em vermelho, confirmados por testes bioquímicos, NA e ST1 = controles internos do laboratório, CP= controle positivo *Salmonella enteritidis* ATCC 14028; CN = Controle Negativo.



## 12. ANEXO 3

### NORMAS DE SUBMISSÃO PARA A REVISTA HIGIENE ALIMENTAR

01. As colaborações enviadas à Revista Higiene Alimentar na forma de artigos, pesquisas, comentários, revisões bibliográficas, notícias e informações de interesse para toda a área de alimentos, devem ser elaboradas utilizando *softwares* padrão IBM/PC (textos em *Word nas mais variadas versões do programa*; gráficos em *Winword, Power Point* ou *Excel*) ou *Page Maker 7*, ilustrações em *Corel Draw* nas mais variadas versões do programa (verificando para que todas as letras sejam convertidas para curvas) ou *Photo Shop*.

02. Os trabalhos devem ser digitados em caixa alta e baixa (letras maiúsculas e minúsculas), evitando títulos e/ou intertítulos totalmente em letras maiúsculas e em negrito. Tipo da fonte *Times New Roman*, ou similar, no tamanho 12.

03. Do trabalho deverão constar as seguintes partes: Título, Resumo, Palavras-chave, *Abstract*, keywords, Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão, Conclusão e Referências Bibliográficas. Os gráficos, tabelas e figuras devem fazer parte do corpo do texto e o tamanho total do trabalho deve ficar entre 6 e 9 laudas (aproximadamente 9 páginas em fonte TNR 12, com espaçamento entre linhas 1,5 e margens superior e esquerda 3 cm, inferior e direita 2 cm).

04. Resultados de pesquisas relacionados a seres humanos deverão ser apresentados acompanhados do número do parecer junto ao Comitê de Ética da instituição de origem ou outro relacionado ao Conselho Nacional de Saúde.

05. Do trabalho devem constar: o nome completo do autor e co-autores (respeitando o máximo de quatro), e-mail de todos (será publicado apenas o e-mail do primeiro autor, o qual responde pelo trabalho) e nome completo das instituições às quais pertencem, com três níveis hierárquicos (Universidade, Faculdade, Departamento), também a cidade, estado e país.

06. As referências bibliográficas devem obedecer às normas técnicas da ABNT-NBR-6023 e as citações conforme NBR 10520 sistema autor-data.

07. Para a garantia da qualidade da impressão, são indispensáveis as fotografias e originais das ilustrações a traço. Imagens digitalizadas deverão ser enviadas mantendo a resolução dos arquivos em, no mínimo, 300 pontos por polegada (300 dpi).

08. Será necessário que os colaboradores mantenham seus programas anti-vírus atualizados

09. Todas as informações são de responsabilidade do primeiro autor com o qual faremos os contatos, através de seu e-mail que será também o canal oficial para correspondência entre autores e leitores.

10. Juntamente com o envio do trabalho deverá ser encaminhada declaração garantindo que o trabalho é inédito e não foi apresentado em outro veículo de comunicação. Na mesma deverá constar que todos os autores estão de acordo com a publicação na Revista.

11. Não será permitida a inclusão ou exclusão de autores e co-autores após o envio do trabalho. Após o envio do trabalho, só será permitido realizar mudanças sugeridas pelo Conselho Editorial.

12. Os trabalhos deverão ser encaminhados exclusivamente *on-line*, ao e-mail [autores@higienealimentar.com.br](mailto:autores@higienealimentar.com.br).

13. Recebido o trabalho pela Redação, será enviada **declaração de recebimento** ao primeiro autor, no prazo de dez dias úteis; caso isto não ocorra, comunicar-se com a redação através do e-mail [autores@higienealimentar.com.br](mailto:autores@higienealimentar.com.br)

14. As colaborações técnicas serão devidamente analisadas pelo Corpo Editorial da

revista e, se aprovadas, será enviada ao primeiro autor declaração de aceite, via *e-mail*.

15. As matérias serão publicadas conforme ordem cronológica de chegada à Redação. Os autores serão comunicados sobre eventuais sugestões e recomendações oferecidas pelos consultores.

16. Para a Redação viabilizar o processo de edição dos trabalhos, o Conselho Editorial solicita, a título de colaboração e como condição vital para manutenção econômica da publicação, que pelo menos um dos autores dos trabalhos enviados seja assinante da Revista. Neste caso, por ocasião da publicação, será cobrada uma taxa de R\$ 50,00 por página diagramada. Não havendo autor assinante, a taxa de publicação será de R\$ 70,00 por página diagramada.

17. Quaisquer dúvidas deverão ser imediatamente comunicadas à Redação através do *e-mail*

[autores@higienealimentar.com.br](mailto:autores@higienealimentar.com.br)