



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL

NATALY SAYONARA DA SILVA MELO

**Detecção de genes de resistência em isolados de *Salmonella* spp. formadores de biofilme oriundos de carcaças de frango in natura comercializadas em mercados públicos da cidade do Recife - PE**

RECIFE – PE  
2020



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL

NATALY SAYONARA DA SILVA MELO

**Deteccção de genes de resistência em isolados de *Salmonella* spp. formadores de biofilme oriundos de carcaças de frango in natura comercializadas em mercados públicos da cidade do Recife - PE**

Trabalho de dissertação apresentado ao Programa de pós-graduação em Biociência Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como pré-requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Biociência Animal.

Orientadora: Profa. Dra. Elizabeth Sampaio de Medeiros

Coorientador: Prof. Dr. Marcelo Mendonça

RECIFE – PE  
2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Sistema Integrado de Bibliotecas  
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- S586d      Melo, Nataly Sayonara da Silva  
              Detecção de genes de resistência em isolados de *Salmonella* spp. formadores de biofilme oriundos de carcaças de frango in natura comercializadas em mercados públicos da cidade do Recife - PE / Nataly Sayonara da Silva Melo. - 2020.  
              60 f. : il.
- Orientadora: Elizabeth Sampaio de .  
              Coorientadora: Marcelo Mendonca. Inclui referências.
- Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal, Recife, 2020.
1. *Salmonella* spp. 2. ?-lactâmicos. 3. infecção alimentar. I. , Elizabeth Sampaio de, orient. II. Mendonca, Marcelo, coorient. III. Título

---

CDD 636.089

NATALY SAYONARA DA SILVA MELO

**Deteccão de genes de resistência em isolados de *Salmonella spp.* formadores de biofilme oriundos de carcaças de frango in natura comercializadas em mercados públicos da cidade do Recife – PE**

Trabalho de dissertação apresentado ao Programa de pós-graduação em Biociência Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como pré-requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Biociência Animal.

**Aprovada em 18 de fevereiro de 2020**

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Marcelo Mendonça  
Medicina Veterinária - UFAPE (Coorientador)  
Presidente da banca

---

Prof<sup>a</sup> Dra Anna Carolina Soares Almeida  
Departamento de biologia – UFRPE  
Membro titular

---

Dra. Amanda Rafaela Carneiro de Mesquita  
Departamento de Tecnologia Rural – UFRPE  
Membro titular

---

Fernanda Maria Lino de Moura  
Médica Veterinária  
Membro suplente

Dedico este trabalho à minha família, por toda força e acolhimento, e à  
Ana Patrícia Oliveira Peixoto (**in memoriam**)

.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço ao universo, por todas as oportunidades e por todos os seres que surgiram em meu caminho.

Agradeço a dona Maria Trindade e seu Ivan por terem me permitido entrar em suas vidas. Aos meus irmãos, Viviane, Eveline, Érica e Érondes por terem dedicado parte de suas vidas a minha criação e por terem contribuído tanto para o meu crescimento. Agradeço também a todos os meus sobrinhos por me proporcionarem tantos momentos. Ser tia é a melhor coisa.

Aos meus amigos de longa data, e aos que não fazem tanto tempo assim. Obrigada por toda força e carinho.

Agradeço a todos os professores que tive, e que me ajudaram a subir cada degrau até aqui, e mais estão por vir.

Agradeço a minha equipe favorita do laboratório, Maria Goretti, Jéssica Martins, e Fernanda Lino, obrigada por tudo meninas. E a todos os colegas de laboratório.

Agradeço a minha orientadora Prof Dra Elizabeth Sampaio de Medeiros e ao meu coorientador prof Dr Marcelo Mendonça por terem me recebido e por todos os ensinamentos. Agradecimento especial a Prof Dra Anna Carolina Soares Almeida por ter me recebido em seu laboratório e por ajudado a dar uma nova roupagem a este trabalho, obrigada. Agradeço também a todos os seus orientados por me receberem tão bem e me ajudarem com o experimento, em especial Paula Salgueiro, obrigada pelas aulas.

Muito obrigada, de coração!

“O importante é estar pronto, a qualquer momento, a sacrificar aquilo que somos a favor do que podemos vir a ser.”

Charles Dubois

“O caminho ao louco pertence.” (Autor desconhecido)

## RESUMO

*Salmonella* spp. é responsável por causar problemas para a indústria de alimentos, e para saúde pública, uma vez que pode causar salmonelose, uma das mais importantes doenças transmitidas por alimentos. Além disso, são capazes de formar biofilmes, que possibilitam a permanência deste agente nas superfícies, tornando-se fontes constantes de contaminação dos alimentos. A carne de frango é considerada uma das mais importantes fontes na disseminação deste microrganismo. Assim, o objetivo deste estudo foi isolar, avaliar a capacidade de formação de biofilme, o perfil de susceptibilidade, e detectar a presença de genes de resistência em cepas de *Salmonella* spp. isoladas de carne de frango *in natura* comercializada em mercados públicos de Recife – PE. Foram adquiridas 61 carcaças de frango nestes locais de comercialização, que em seguida foram encaminhadas para o Laboratório de Inspeção de carne e leite, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, para a realização das análises. 21 das 61 carcaças foram positivas para a presença de *Salmonella* spp. Todos os isolados foram capazes de formar biofilme, e foram classificados com fracos formadores de biofilme. No teste de susceptibilidade aos antimicrobianos, 47,61% (10/21), 42,85% (09/21), 4,76% (01/21), 14,28% (03/21), 23,80% (05/21), 47,61% (10/21) do total de amostras foram resistentes a ampicilina, cefotaxima, cloranfenicol, ciprofloxacina, e sulfametoxazol + trimetoprim, respectivamente. Genes de resistência foram detectados em todos os isolados. A presença de genes de resistência em cepas de *Salmonella* spp. capazes de formar biofilme, provenientes de carcaças de frango no presente estudo é preocupante, uma vez que tais genes conseguem ser disseminados por toda a cadeia de alimentos, e configuram assim riscos à saúde pública, visto que a presença de cepas patogênicas de *Salmonella* spp. e multirresistentes a antimicrobianos comprometem o tratamento das infecções e acarretam prejuízos a saúde dos consumidores.



## ABSTRACT

*Salmonella* spp. causes problems in the food industry, and also to the public health, as some strains may cause salmonellosis, considered the main foodborne illness. Additionally, these microorganisms are capable to form biofilm, that allows them to stay for long periods on the surfaces for long periods. Thus, it becomes a constant source of food contaminants. Poultry meat is one of the most important sources of *Salmonella* spp. dissemination. Therefore, the aim of this research was to isolate and evaluate the biofilm formation capacity, and also the susceptibility profile to antimicrobials, and the detection of resistance genes in *Salmonella* spp. strains from fresh poultry carcasses. 21 poultry carcasses were positive to the presence of *Salmonella* spp. All the 21 strains formed biofilm and were classified as weak biofilm former. The susceptibility profile to antimicrobials, 47,61% (10/21), 42,85% (09/21), 4,76% (01/21), 14,28% (03/21), 23,80% (05/21), 47,61% (10/21) of the strains were resistant to ampiciline, cefotaxime, chloramphenicol, ciprofloxacin and sulfamethoxazole + trimethoprim, respectively. *bla*TEM-like, *bla*CTX-M- like, *qnrA*, *qnrB* e *qnrD* genes were detected in the strains. The presence of these genes in *Salmonella* spp. strains biofilm former isolated from Poultry carcasses in this study is alarming, as these genes can be transmitted in the whole production chain. Therefore, it can be considered a public health problem, since pathogenic and multidrug resistant *Salmonella* spp. strains may affect the treatment of infections, thus brings losses to the health of consumers.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
3. OBJETIVOS .....	33
4. REFERÊNCIAS .....	35
5. ARTIGO.....	43
Detecção de genes de resistência em isolados de <i>Salmonella spp.</i> formadores de biofilme oriundos de carcaças de frango <i>in natura</i> comercializada em mercados públicos .....	44
Detection of resistance genes in <i>Salmonella spp.</i> biofilm former from fresh poultry carcasses sold in public markets .....	44
5.1 INTRODUÇÃO.....	45
5.2 MATERIAL EMÉTODOS.....	46
Isolamento e Identificação.....	46
Teste de disco-aproximação para detecção de beta-lactamases .....	47
Análises Moleculares para detecção de genes de resistência .....	47
Detecção dos genes de Resistência .....	47
Detecção dos genes de $\beta$ -lactamases.....	47
5.3 RESULTADOS EDISCUSSÃO.....	48
Resistência antimicrobiana .....	49
Perfil de susceptibilidade .....	49
Testes fenotípicos para detecção de Beta-lactamases de espectro estendido (ESBL) e Carbapenemases.....	52
Testes moleculares para a detecção de genes de resistência.....	52
Formação de biofilme .....	53
5.4 CONCLUSÃO.....	54
5.5 CONFLITO DE INTERESSE.....	54
5.6 AGRADECIMENTOS.....	55
5.7 REFERÊNCIAS .....	55
6. CONSIDERAÇÕESFINAIS.....	60

## **LISTA DE FIGURAS**

<b>Figura 1. Etapas de formação de biofilme microbiano.....</b>	<b>29</b>
---	-----------

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> <i>Primers</i> utilizados para detecção dos genes de $\beta$ -lactamases.....	<b>48</b>
<b>Tabela 2.</b> Perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos dos isolados de <i>Salmonella spp.</i> .....	<b>51</b>
<b>Tabela 3</b> Genes de resistência detectados em cada isolado obtidos no estudo.....	<b>53</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior exportador de carne de frango do mundo, seguido pelos Estados Unidos da América e a União Europeia, e é considerado o segundo maior produtor, com produção de 13,05 milhões de toneladas de carne de frango em 2017. O consumo per capita de carne de frango no Brasil foi de 42,07 kg (ABPA, 2018).

O setor avícola no Brasil sofreu diversas mudanças nos últimos anos, e cresce constantemente, em razão do desenvolvimento do mercado interno, como também pelo o aumento das exportações (SHINOHARA et al., 2008). O que também é associado em razão da carne de frango ser uma fonte de proteína acessível à população (CHANG, 2007).

Entretanto, a carne de frango pode ser contaminada por diversos tipos de microrganismos, desde aqueles que causam deterioração do produto, até aqueles considerados patogênicos. Mundialmente, a maior fonte de doenças transmitidas por alimentos (DTA's) para seres humanos são os produtos cárneos, onde se destaca a carne de frango (ANTUNES et al., 2015). Fatores como operacionalização insatisfatória das diversas etapas do processamento das aves, cozimento armazenamento inadequados, contaminação cruzada e uso de ingredientes crus no preparo dos alimentos, são os fatores mais comuns que contribuem para o surgimento das DTA's (AKBAR & ANAL, 2013).

As DTA's são um problema de saúde pública em todo o mundo. A diarreia é o sintoma de caráter agudo mais comum nos casos de DTA's, porém quando o indivíduo acometido é imunodeprimido e não recebe tratamento adequado podem ocorrer sintomas mais severos, como, falências renal e hepática, desordem cerebral e neural, e o óbito (WHO, 2019).

Bactérias do gênero *Salmonella* estão entre os principais microrganismos causadores de doenças de origem alimentar. Estes microrganismos são responsáveis por causar a salmonelose, considerada uma das mais importantes DTA's para seres humanos associada a diversos produtos alimentares, como por

exemplo os produtos avícolas, constituindo assim um importante problema de saúde pública (OLOBATOKE, 2017; WHO, 2019).

Outro problema relacionado a presença de *Salmonella* spp em carcaças de frango diz respeito a resistência antimicrobiana devido ao uso de agentes antimicrobianos como promotores de crescimento na produção avícola (SILVA et al., 2014; LUGITO & CUCUNAWANGSIH, 2017).

A ampla utilização de agentes antimicrobianos na produção animal tem sido debatida em todo o mundo. Segundo Lai et al (2014), o uso indiscriminado de agentes antimicrobianos na produção animal exerce pressão de seleção sobre as bactérias, o que favorece a persistência de cepas resistentes. Que são muitas vezes transferidas dos alimentos de origem animal para os seres humanos através do consumo destes alimentos (GEBREYES et al., 2017).

Além do impacto à saúde pública, a presença de bactérias patogênicas, como algumas do bactérias do gênero *Salmonella* carretam grande impacto na indústria de alimentos de origem animal, como a da carne de frango. Uma das maiores preocupações do setor diz respeito a capacidade de formação de biofilme por estes agentes. Os microrganismos formam biofilme como estratégia para otimizar sua sobrevivência, uma vez que, quando protegidos pela camada do biofilme, o acesso de drogas antimicrobianas e substâncias comumente utilizadas os processos de limpeza e sanificação a esses microrganismos é dificultado. E por esta razão, estes microrganismos podem permanecer viáveis por longos períodos de tempo no ambiente (VESTBY et al., 2009; KASNOWSKI et al., 2010).

Mesmo havendo preocupação do setor alimentar e dos órgãos governamentais, com elaboração e execução de medidas preventivas referentes a inocuidade deste produto de origem animal, a eliminação de biofilmes na indústria de alimentos e o surgimento e disseminação de cepas resistentes contra agentes antimicrobianos ainda é um desafio. Assim é necessário elucidar estratégias para o controle e eliminação destas estruturas na indústria de alimentos, principalmente na

cadeia produtiva da carne de frango. A fim de diminuir os prejuízos que biofilmes microbianos acarretam para a indústria de alimentos e para a saúde pública. Como também, realizar monitoramento constante da resistência antimicrobiana em cepas de *Salmonella* spp.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 *Salmonella* spp.

As bactérias do gênero *Salmonella*, assim nomeado em homenagem ao médico veterinário bacteriologista Daniel E. Salmon (1850–1914), pertencem a família *Enterobacteriaceae*, e são considerados microrganismos patogênicos zoonóticos, em sua maioria. Amplamente distribuídos na natureza, são encontrados frequentemente no trato intestinal dos seres humanos e outros animais (CORCORAN, 2013).

Estes microrganismos são Gram-negativos, não formadores de esporos, tem forma de bacilo e são móveis (com exceção a *Salmonella pullorum* e *S. gallinarum*). Além disso, são anaeróbios facultativos e podem se multiplicar em temperaturas de 5 °C a 45 °C, com crescimento ótimo de 35 °C a 37°C (FRANCO & LANDGRAF, 2005; BHUNIA, 2008; MAHMOUD, 2012).

Bioquimicamente, as bactérias do gênero *Salmonella* spp. são produtoras de catalase, reduzem nitrito a nitrito, e são vermelho de metila positivo. Grande parte dos sorovares fermentam a glicose com produção de ácido, como o ácido sulfídrico (H<sub>2</sub>S) e gás, e não fermentam a sacarose e a lactose. Esses microrganismos não produzem urease e indol, descarboxilam lisina e ornitina, fermentam o dulcitol e utilizam o citrato como fonte de carbono (D'AOUST & MAURER, 2007).

O gênero *Salmonella* é classificado em duas espécies, *Salmonella enterica* e *Salmonella bongori*. A espécie *S. enterica* é subdividida em seis subespécies: *S. Enterica* subsp. *enterica*, *S. enterica* subsp. *salamae*, *S. enterica* subsp. *arizonae*, *S. enterica* subsp. *diarizonae*, *S. enterica* subsp. *houtenae*, e *S. enterica* subsp. *indica* (ISSENHUTH-JEANJEAN et al., 2014).

A classificação do gênero *Salmonella* é baseada no Esquema de Kauffman-White, que propõe a divisão do grupo em sorogrupos e sorovares, com base na presença dos antígenos O (somático), H (flagelar), e Vi (capsular) (BELL &



KYRIAKIDES, 2002; CORCORAN, 2013).

O antígeno O caracteriza os sorogrupos de *Salmonella* spp., e são comuns a uma diversidade de sorovares. Cada antígeno O tem designada uma identificação numérica para identificação. As cepas que não expressam antígenos O são referidos como irregulares na estrutura antigênica (CORCORAN, 2013).

O antígeno H é a porção filamentar do componente flagelar da bactéria. E essa diferenciação antigênica é relacionada com a diversidade no meio da porção da proteína flagelina. A maioria das células de *Salmonella* podem expressar dois diferentes antígenos H, ao qual são chamadas de difásicas. A fase um é decodificada pelo gene *fliC* e a fase dois é decodificada pelo gene *fliB*. E a maior parte das células expressam apenas um antígeno porvez. As células que podem expressar apenas um antígeno são denominadas monofásicas, que podem ocorrer naturalmente em alguns sorovares ou através da perda de um dos genes *fliC* ou *fliB* naqueles sorotipos considerados difásicos, como *Salmonella* Typhimurium (CORCORAN,2013).

E o antígeno Vi (capsular), relacionado à virulência. Este antígeno é presente apenas em alguns sorotipos, como *S. Typhi*, *S. Paratyphi*, *S. Dublin* (BELL & KYRIAKIDES, 2002; GUIBOURDENCHE et al., 2010).

## **2.2 Contaminação cruzada**

O ambiente doméstico, principalmente a cozinha, representa uma fonte bem estabelecida de contaminação microbiana. A disseminação de microrganismos neste ambiente está intimamente relacionada com práticas de manipulação inadequadas, que geram impacto a saúde humana (REDMON et al., 2004; FLORES et al., 2013; MAROTTA et al., 2018). Para Redmond et al (2004), os consumidores tem papel importante para assegurar o consumo seguro dos alimentos e na prevenção das doenças de origem alimentar, pois são o elo final da cadeia produtiva. Desta forma, o comportamento dos mesmos em relação a segurança dos alimentos tem sido assunto primordial em recentes pesquisas.

Vários estudos têm avaliado as formas de contaminação dos alimentos na cozinha domiciliar em razão da contaminação cruzada. Em estudo realizado por Marotta et al (2018), esponjas de lavar louças em uso foram analisadas em relação a comunidade microbiológica presente para entender a função destas com a contaminação cruzada no ambiente doméstico. Como resultado, os autores encontraram diversos agentes microbianos, inclusive agentes patogênicos, como *Listeria monocytogenes*. Para os autores, esses resultados confirmam uma baixa percepção dos consumidores em relação as doenças transmitidas por alimentos relacionadas com a contaminação cruzada no ambiente residencial.

Ejechi e Ochei (2017) realizaram na Nigéria estudo sobre a contaminação cruzada em 60 cozinhas domésticas, e observaram a presença de coliformes totais e coliformes fecais em vários itens da cozinha, como geladeiras, mesas, tábuas de cortar, toalhas e maçanetas. Para estes autores, a presença de microrganismo indicadores nesses itens no ambiente da cozinha é indicativo de um alto potencial de transmissão de agentes causadores de doenças transmitidas por alimentos nas residências analisadas. E o risco de contaminação dos alimentos por patógenos entéricos é potencializado em razão da alta prevalência de coliformes fecais, que representou valor acima de 55% no ambiente e nas superfícies de contato nessas cozinhas.

Em trabalho desenvolvido por Flores et al (2013), 80% das superfícies de 4 cozinhas domésticas foram analisadas quanto aos padrões biogeográficos bacterianos presentes nesses locais. Onde foram identificadas 34 espécies de bactérias. E as mais diversas comunidades bacterianas foram associadas com a ausência de hábitos de limpeza nas superfícies, como, ventiladores acima dos fogões, selos de porta de geladeira / freezer, e pisos. A estruturação da comunidade microbiana foi influenciada pelas condições de cada superfície, os padrões de uso e a difusão do ambiente de origem. O estudo demonstrou que as diversas comunidades bacterianas são amplamente distribuídas nas cozinhas residenciais e que a constituição dessas comunidades é previsível.

O isolamento de espécies bacterianas patogênicas, como *Salmonella* e

*Campylobacter*, tem sido relevante para a obtenção de avaliação microbiológica detalhada sobre os riscos associados com a contaminação cruzada relacionados com os hábitos implementados pelos consumidores durante a preparação de alimentos a nível domiciliar. Esses achados em pesquisa realizada por Redmond et al (2004), demonstram que *Campylobacter*, por exemplo, pode ser facilmente transferido de carne de frango naturalmente contaminada para as superfícies da cozinha, alimentos prontos para o consumo (“*Ready to eat*”), e as vestimentas durante a preparação dos alimentos.

A introdução de *Salmonella* a nível domiciliar é oriunda principalmente de carne de frango contaminada, uma vez que o isolamento deste patógeno em amostras de carcaças é relatada em diversos estudos. Em pesquisa realizada por Silva et al (2018) na cidade de Rio Verde, Goiás, foram analisadas um total de 80 amostras de carcaças de frango, e destas, 24 foram positivas para *Salmonella*. No Paraná, Druziani et al (2013) encontraram 12 amostras positivas para este agente de um total de 40 amostras analisadas. Silva et al (2018), avaliaram um total de 20 carcaças de frango na cidade de Campinas, São Paulo, e observaram que em 5 amostras foi observada a presença d *Salmonella*. E Baptista et al. (2018), constataram a presença *Salmonella* spp. de em 16 de 60 amostras de carcaças de frango, no estado do Rio de Janeiro.

Diante disto, a contaminação cruzada é um ponto chave na transferência de agentes microbianos, principalmente os agentes patogênicos, como *Salmonella* spp e conseqüentemente na ocorrência das doenças de origem alimentar. Uma vez que essa transferência ocorre por diferentes interações entre homem, alimento e o ambiente.

### **2.3 Infecção alimentar causada por *Salmonella*spp.**

A infecção causada por *Salmonella* spp., denominada como salmonelose, é conhecida como uma das mais importantes doenças transmitidas por alimentos (DTA's) (CARDOSO e CARVALHO, 2006). Os sintomas da salmonelose são diarreia, febre e dor abdominal, entre 12 a 72 horas após a invasão do

microrganismo, e os sintomas podem durar de 4 a 7 dias. O grau em que o indivíduo é acometido pela infecção depende do seu estado geral de saúde e do número e virulência do microrganismo ingerido. A maioria dos indivíduos apresentam cura sem tratamento após 4 a 7 dias, no entanto, indivíduos susceptíveis, como idosos, crianças e imunodeprimidos podem apresentar diarreia mais severa, necessitando de hospitalização. Nesses casos a infecção pode disseminar dos intestinos para a corrente sanguínea e atingir outros órgãos. E nestes casos, o óbito pode ocorrer se o paciente não receber tratamento adequado (BOLLAERTS et al., 2008; CDC, 2018).

Segundo o Centro para Doenças, Controle e Prevenção (CDC), é estimado que *Salmonella* seja a causa de cerca de 1.2 milhões de casos de infecção, 23.000 hospitalizações, e 450 mortes por ano nos Estados Unidos da América. A infecção relacionada com a ingestão de alimentos contaminados representa cerca de 1 milhão destes casos (CDC, 2019). No ano de 2017, foram reportados casos de 24.484 infecções, 5.677 hospitalizações e 122 mortes (CDC, 2018a).

Na União Europeia, de acordo com Instituto Nacional de Saúde Pública e Meio Ambiente, 96.039 casos suspeitos de salmonelose foram notificados em 2016, e destes, 94.530 casos foram confirmados (EFSA, 2017). Já no Brasil, de acordo com o Ministério da Saúde, 12.660 casos de surtos alimentares foram notificados do ano de 2000 a 2017, e um dos agentes causadores de doenças transmitidas por alimentos (DTA's) mais identificados foi *Salmonella* spp., que representou 35% dos casos (BRASIL, 2018).

Os surtos de doenças transmitidas por alimentos ocorrem com maior frequência a nível domiciliar. Segundo o ministério da saúde, de um total de 6.809 surtos ocorridos de 2009 a 2018, o local que teve maior frequência foi a residência, o que representou 37,2%, enquanto que restaurantes/padarias e similares representaram 16,0% desse total (BRASIL, 2019).

## 2.4 Resistência antimicrobiana

Agentes antimicrobianos são compostos que podem ser naturais, semissintéticos e sintéticos. Estes compostos são amplamente utilizados na medicina humana e veterinária para tratar ou prevenir doenças, e também são muitas vezes utilizados como promotores de crescimento ou ainda para aprimorar o desempenho reprodutivo dos animais na produção animal (MENKEM et al., 2018).

No entanto, a ampla utilização de agentes antimicrobianos na produção animal tem sido debatida por diversos órgãos governamentais de saúde e alimentação em todo o mundo. De acordo com Lai et al (2014), o uso indiscriminado de agentes antimicrobianos na produção animal exerce pressão de seleção sobre as bactérias, o que favorece a persistência de estirpes resistentes. Microrganismos patogênicos, ou fragmentos genéticos que atribuem resistência a esses microrganismos, podem ser transferidos dos alimentos de origem animal para seres humanos através da cadeia alimentar (GEBREYES et al., 2017).

Os microrganismos podem adquirir características de resistência aos agentes antimicrobianos por diversos tipos de mecanismos. Em sua maioria, estes mecanismos são atribuídos a aquisição de elementos extracromossomais de outras bactérias presentes no ambiente, por meio de troca de fragmentos móveis de DNA, como por exemplo plasmídeos, transposons e integrons. Uma vez estabelecidas, as características de resistência antimicrobiana são então disseminadas por toda a cadeia, e como consequência leva a falhas nos tratamentos de infecções e toxinfecções (ALEKSHUN e LEVY, 2007; KIRBIS e KRIZMAN, 2015; GEBREYES et al, 2017).

A inquietação a respeito da emergência de cepas patogênicas resistentes a agentes antimicrobianos tem crescido substancialmente nas últimas décadas em todo o mundo, principalmente em relação as cepas patogênicas de *Salmonella spp.* (ÁLVAREZ- FERNÁNDEZ et al., 2012). Como citado anteriormente, a salmonelose é uma das principais doenças transmitidas por alimentos, cujo

sinais estão relacionados com gastroenterite, na maioria das vezes auto-limitante. Entretanto, em casos mais severos, quando acomete pacientes imunodeprimidos, a antibioticoterapia torna-se necessária. (MIRIAGOU et al., 2004).

Por muitos anos ampicilina, cloranfenicol e trimetoprim-sulfametoxazol foram consideradas drogas de escolha para o tratamento dos casos de salmonelose mais severos. Contudo, em razão da taxa crescente de resistência a estas drogas, a eficácia no tratamento foi reduzida e como consequência, outras drogas foram selecionadas. Nos últimos anos, fluoroquinolonas e cefalosporinas de amplo espectro foram selecionadas para serem as drogas de escolha. Dentre os maiores grupos de agentes antimicrobianos estão os  $\beta$ -lactâmicos, onde destacam-se as penicilinas, cefalosporinas e carbapenêmicos. Agentes antimicrobianos pertencentes a esta classe são caracterizados por possuírem um anel beta-lactâmico com uma cadeia lateral variada. E atuam inibindo a última fase da biossíntese da parede celular das bactérias. Há também os inibidores de  $\beta$ -lactamases, como o ácido clavulânico, sulbactam e tazobactam. (SEFTON, 2002; AZEVEDO, 2014; FAGNELLO, 2018).

## **2.5 Resistência aos $\beta$ -lactâmicos**

Uma das formas de resistência aos  $\beta$ -lactâmicos ocorre em razão da produção de enzimas chamadas  $\beta$ -lactamases, e estas enzimas hidrolisam e inativam a ação do anel  $\beta$ -lactâmico dos antibióticos Beta-lactâmicos (FINCH et al., 2012; BAEDE et al., 2017).

Há diversos tipos de  $\beta$ -lactamases. As penicilinases, que hidrolisam as penicilinas; as cefalosporinases, que hidrolisam as cefalosporinas. E há aquelas enzimas que hidrolisam as duas classes de agentes antimicrobianos. Em alguns microrganismos pode ser observada a produção de diferentes tipos de  $\beta$ -lactamases, e em algumas cepas podem ser produzidas diferentes enzimas, como também, em uma única cepa pode ser observada a produção de mais de uma enzima (BUSH; JACOBY; MEDEIROS, 1995).

As  $\beta$ -lactamases são classificadas por dois sistemas, o sistema de

Ambler e o sistema de Bush, Jacoby e Medeiros, que é a mais usada. Na classificação de Ambler, que é molecular, é baseada na conservação e na sequência dos aminoácidos, que categoriza as enzimas em quatro, enzimas das classes A, B, C e D (AMBLER, 1980). Tais enzimas utilizam serina para a hidrólise do  $\beta$ -lactâmico e metaloenzimas de classe B que requerem íons de zinco divalentes (íons metálicos) para a hidrólise do substrato. A classificação de Bush, Jacoby e Medeiros, categoriza as  $\beta$ -lactamases segundo seus perfis de substratos e inibidores. E assim, correlaciona estas enzimas com fenótipos em isolados. Nesta classificação, existem três grupos, grupo 1 (classe C, cefalosporinas; grupo 2 (classes A e D),  $\beta$ -lactamases de espectro estendido, resistente a inibidores, espectro estendido e carbapenemases de serina, e grupo 3 (classe B), metalo- $\beta$ -lactamases (BUSH; JACOBY; MEDEIROS, 1995; JACOBY, 2010)

## 2.6 $\beta$ -lactamases de espectro estendido (ESBL)

Dentre as  $\beta$ -lactamases, existem as enzimas  $\beta$ -lactamases de espectro estendido (ESBL), e essas enzimas exibem amplo espectro de resistência aos agentes antimicrobianos da classe dos  $\beta$ -lactâmicos, onde são capazes de hidrolisar oximino-cefalosporinas (cefalosporinas de 3ª e 4ª geração) e geralmente tem origem plasmidial (RAHMAN et al. 2018). Este perfil de resistência é observado em alguns sorovares de *Salmonella* spp., uma vez que sobrevivem à ação de cefalosporinas e carbapenêmicos (QIAO et al., 2017; TIPPELSKIRCH et al., 2018).

A disseminação de bactérias produtoras de ESBL tem sido observada em hospitais, meio ambiente, animais, seres humanos e também em alimentos. Na produção de alimentos, a presença destas bactérias tem sido observada principalmente na cadeia de produção de carne de frango, principalmente isoladas da superfície de carcaças de frango e em ambientes de comercialização, como o varejo. O que facilita a disseminação de bactérias produtoras de ESBL para os seres humanos, através da cadeia alimentar (GIURIATTI, 2017; CASELLA et al., 2017; SCHILL et al., 2017).

As  $\beta$ -lactamases são codificadas por elementos genéticos extracromossomais, ou por sequências oriundas de outro genoma que foram recombinadas no cromossomo; mas principalmente por fragmentos extracromossomais, como os plasmídeos e transposons (O'BRIEN, 2002). Dentre as principais famílias que compreendem genes de resistência plasmidiais, destacam-se Temoniera (TEM), Sulfidril variável (SHV), Oxacilina (OXA) e CTX – M. No gênero *Salmonella*, são encontradas várias  $\beta$ -lactamases codificadas por diversos genes. Tais genes, são agrupados em diferentes subgrupos de genes relacionados a produção de  $\beta$ -lactamases (*bla*): *bla*TEM, *bla*SHV, *bla*PSE, *bla*OXA, *bla*PER, *bla*CTX – M, *bla*ACC, *bla*DHA e *bla*KPC (LEONÍDIO et al., 2015).

Estes genes são importantes na regulação da capacidade de resistência frente aos beta-lactâmicos (STÜRENBURG et al., 2005; ALI et al., 2017; BARILLI et al., 2018). Estes genes podem ser transferidos horizontalmente por conjugação, transformação, transposição ou transdução (OVERDEVEST et al., 2011; SANCHEZ-MALDONADO et al., 2017; TIPPELSKIRCH et al., 2018; MOREHEAD & SCARBROUGH, 2018).

## 2.7 $\beta$ -lactamases tipo AmpC

As  $\beta$ -lactamases do tipo AmpC são enzimas que compõe um grupo de cefalosporinases, enzimas capazes de hidrolisar cefalosporinas, cefamicinas e oximinocefalosporinas. Porém, não possuem ação frente à inibidores de  $\beta$ -lactamases, como ácido clavulânico; carbapenemos, e em sua maioria às cefalosporinas de quarta geração (BRANDÃO, 2013; SANTIAGO et al., 2016; ROIAS, 2017; FAGANELLO, 2018).

As enzimas AmpC podem ser cromossômicas ou plasmidiais, quando intrínsecas de microrganismos, ou quando codificadas por plasmídeos, sendo adquiridas horizontalmente por outros microrganismos que possuem AmpC (BRANDÃO, 2013; ROIAS, 2017). As enzimas AmpC são codificadas geralmente em cromossomos de diversas enterobactérias, e no caso de *Salmonella* spp., essas enzimas são encontradas em plasmídeos (FLAGANELLO, 2018).



A enzima AmpC é codificada pelo gene *bla*CMY, e é relacionada a resistência a agentes antimicrobianos tais como, ampicilina, ceftiofur e ceftriaxona (AARESTRUP et al., 2004).

A capacidade de hidrólise de cefalosporinas de terceira geração das enzimas AmpC é um problema em ambientes hospitalares, em razão destes agentes antimicrobianos serem utilizados no tratamento de infecções, uma vez que tem poder de ação contra enterobactérias, e também possuem um amplo espectro de ação contra bactérias Gram-negativas e Gram-positivas (BRANDÃO, 2013).

## 2.8 Carbapenemases

Os agentes antimicrobianos carbapenemos pertencem à classe dos  $\beta$ -lactâmicos. Possuem atividade de ação de amplo espectro e são utilizados no tratamento de infecções severas causadas por bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (NHAMBE, 2014). A resistência aos carbapenemos ocorre através da produção de enzimas carbapenemases,  $\beta$ -lactamases, como também por meio da perda de porinas específicas da membrana externa da bactéria, e como consequência ocorre modificação da permeabilidade da membrana (NORDMANN & POIREL, 2014). As carbapenemases hidrolisam diversos agentes antimicrobianos  $\beta$ -lactâmicos, como penicilinas, cefamicinas, carbapenemos e cefalosporinas (MUNOZ-PRICE et al., 2013; FERNÁNDEZ, GUERRA & RODICIO, 2018).

Em enterobactérias são observadas duas classes de carbapenemases; as metalo – betalactamases e as serino-carbapenemases, sendo *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases (KPC) incluída nesta classe (KPC) (RAPP et al, 2012; PINTO et al, 2014). As KPCs são codificadas pelo gene *bla*KPC, e, e estes genes estão geralmente localizados em plasmídeos e frequentemente estão relacionados com o transposon (BONOMO, 2016; PALZKILL, 2018). Já são reconhecidas 22 variantes da enzima KPC, e estas são classificadas como KPC – 2 a KPC – 23 (NAAS et al., 2016).

A presença de carbapenemases é associada a bactérias envolvidas em

casos de infecções hospitalares, porém bactérias produtoras desta enzima têm sido isoladas de animais de produção, como suínos, bovinos e aves, que podem ser consideradas como reservatórios destas linhagens bacterianas, que também vem sendo observadas em frango de corte (FRAGANELLO, 2018).

## 2.9 Resistência à quinolonas

As quinolonas fazem parte de uma classe de antibióticos sintéticos, e são eficazes contra um grande número de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (HOPKINS; DAVIES; THRELFALL, 2005; ARSENE et al., 2007).

As quinolonas são classificadas em gerações, baseadas majoritariamente em no espectro antibacteriano. Primeira geração, como o ácido nalidíxico; segunda geração, ciprofloxacina; terceira geração, levofloxacina; quarta geração, moxifloxacina, são exemplos de antibióticos e suas respectivas gerações (KANATANI, 1999; BOLON, 2011).

Assim como ocorre com outras classes de agentes com ação antimicrobiana, também tem sido relatada resistência antimicrobiana à quinolonas. E esta resistência ocorre por mutações nas enzimas DNA-girase e topoisomerase IV, sistema de efluxo, alterações de porinas, proteção de sítio alvo, e também modificações no antimicrobiano. E estes mecanismos de resistência é desencadeado principalmente por meio de genes de resistência, que podem ser carregados por plasmídeos (ALÓS, 2009; BOLON, 2011).

A resistência a quinolonas mediada por plasmídeos (PMQR - *Plasmid Mediated Quinolone Resistance*) é um dos mecanismos mais importantes de resistência a esta classe de antibióticos. E esta descoberta, sugere a transferência horizontal de genes de resistência, fator que implica em sua maior disseminação.

Dentre os mecanismos de resistência a quinolonas mediados por plasmídios, destacam-se, proteção do sítio alvo (proteínas Qnr), alteração do antimicrobiano (enzima aminoglicosídeo acetiltransferase – cr) e sistemas de efluxo (OqxAB e QepA) (RUIZ et al., 2012; POIREL et al., 2012).

As proteínas Qnr conferem resistência às quinolonas (*quinolone resistance*), e são formadas por pentapeptídeos repetidos e codificadas por genes

*qnr* (RUIZ et al., 2012). Estas proteínas atuam protegendo a região alvo das quinolonas na enzima DNA-girase, e assim evita que ocorra a ligação da quinolona na enzima DNA-girase, e assim causa o bloqueio da ação do antimicrobiano (STRAHILEVITZ et al., 2009).

Dentre as proteínas Qnr há uma subdivisão de grupos, e esta divisão é dada de acordo com a similaridade dos aminoácidos QnrA (QnrA1 – QnrA7); QnrB (QnrB1 – QnrB73); QnrC; QnrD (QnrD1 e QnrD2) e QnrS (QnrS1 – QnrS9) (JACOBY, 2005; ASAI et al., 2010; RODRIGUEZ-MARTINEZ et al., 2011).

## **2.10 Formação de biofilme por microrganismos**

Desde do início dos estudos microbiológicos, os microrganismos são estudados de forma individual, o que resultou em maior entendimento sobre diversas atividades microbianas. Contudo, na natureza, o crescimento destas células de forma planctônica (livre) é raro, e o crescimento de forma sésil, ou seja, de forma organizada em comunidades sob a forma de biofilmes, é predominante. Estes biofilmes são compostos por células aderidas a superfícies bióticas ou abióticas, podendo ser encontradas em águas, solos, sedimentos, entre outros (DAVEY e O'TOOLE, 2000; DONLAN, 2002; IST, 2008; FLEMMING et al., 2016)

As bactérias conseguem mudar do estado livre para o estado aderido em resposta às mudanças das condições ambientais (CAIAZZA e O'TOOLE, 2004). Contudo, White et al., (2010), sugerem que a capacidade das bactérias alternarem da forma planctônica (livre) para o biofilme, que é a forma aderida, ocorre em razão de uma mudança no metabolismo.

Em um biofilme, os microrganismos são agregados em uma complexa rede de proteínas, DNA, e polissacarídeo, conectados por uma matriz polimérica extracelular própria, elaborada por meio da produção de substâncias poliméricas extracelulares (EPS) (DAVEY; O'TOOLEY, 2000; DONLAN, 2002). Esta estruturação confere aos microrganismos aderidos uma proteção ao desenvolvimento, propiciando relações simbióticas, o que permite maior resistência em ambientes hostis, e outras situações de estresse (KYAW, 2008;

FLEMMING et al., 2016).

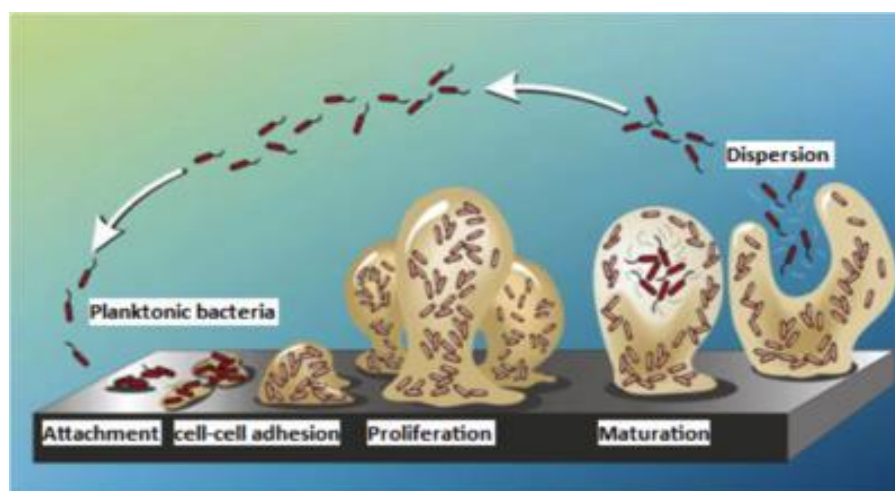
A estruturação da matriz do biofilme é um processo que ocorre de forma dinâmica e depende da viabilidade de nutrientes, da síntese e secreção de material extracelular, condições ambientais, e competição entre os microrganismos pertencentes ao biofilme (FLEMMING et al., 2016). Os sistemas complexos dos biofilmes têm uma alta densidade celular, que variam de  $10^8$  a  $10^{11}$  células por grama e tipicamente é composta por várias espécies. A heterogenicidade desses complexos faz com que essas células do biofilme tenham a habilidade de diferenciação, que podem ser desencadeadas de acordo com as condições locais, assim como etapas específicas de expressão de genes e proteínas que são típicas para o crescimento e desenvolvimento exponencial em ecossistemas heterógenos (FLEMMING et al., 2016).

O desenvolvimento de um biofilme é dirigido por diferentes etapas, como descrito na figura 1. A adesão do microrganismo é na maioria das vezes mediada por interações inespecíficas. Inicialmente, ocorre a adesão primária, considerada um processo reversível. Nesta etapa ocorre a aproximação do microrganismo de forma aleatória ou através de mecanismos de quimiotaxia e de mobilidade à superfície. Após a aproximação do microrganismo a superfície, a adesão irá depender do balanço final entre forças atrativas e repulsivas, que é determinada por variáveis físico-químicas como por exemplo, interações eletrostáticas e hidrofóbicas e forças de Van der Waals. As células que não aderem fortemente completam o processo de adesão a superfície por meio de mediação molecular, entre produtos, como adesinas, e a superfície, com produção de exopolissacáridios e ligação com receptores específicos presentes nas fímbrias com a superfície em que os microrganismos estiverem aderidos. Nesta etapa, denominada irreversível, ocorre a fixação efetiva do biofilme, assim como sua maturação (IST, 2008; HOUDT & VAN, MICHIELS, 2010).

A maturação do biofilme ocorre de 3 a 6 dias após a adesão inicial, e a maturidade ocorre devido ao aumento da densidade populacional, além da

pronunciada produção e deposição de polímeros extracelulares que aumenta a espessura do biofilme (KASNOWSKI et. al., 2010; OLIVEIRA et al., 2010). Na fase de maturação, ocorre a formação do glicocálix, resultado da interação de componentes extracelulares gerados a partir da divisão e morte dos microrganismos presentes no biofilme com moléculas orgânicas e inorgânicas da superfície. Neste momento, o biofilme torna se demasiadamente hidratado, onde se formarão estruturas abertas compostas por material não celular, em sua maioria, e microcanais para que ocorra o influxo de água e de nutrientes e o efluxo de metabólitos de nutrientes (IST, 2008).

Após a maturação, quando o biofilme alcança uma determinada massa crítica e o equilíbrio dinâmico é atingido, as camadas mais externas do biofilme começam a liberar as células menos aderidas em estado planctônico, e essas células irão dispersar e multiplicar em novas superfícies, onde irá ocorrer nova colonização e conseqüentemente formação de um novo biofilme (DAVEY e O'TOOLE, 2000; IST, 2008).



**Figura 1.** Etapas de formação de biofilme microbiano.  
**Fonte:** Caixeta, 2008.

Além de auxiliar na distribuição de água e nutrientes, os microcanais presentes no biofilme atuam para a distribuição de substâncias sinalizadoras para a comunicação entre os microrganismos do biofilme, e este processo de comunicação é denominado *quorum sensing* (BOARI et al., 2009).

O *quorum sensing* é considerado como um processo em que os microrganismos podem coordenar e controlar as atividades que ocorrem no biofilme, como também o tamanho populacional e as funções ali desenvolvidas. Este sistema de comunicação pode ser comparado com o sistema hormonal, em razão de suas atividades serem mediadas por sinais químicos semelhantes a hormônios, onde nesse caso são sintetizados e secretados pelos próprios microrganismos presentes no biofilme (BOYEN et al., 2009; GONZALEZ-RIVAS et al, 2018).

Viver em comunidade, por meio de interações em biofilmes, confere aos microrganismos muitas vantagens. Uma vez que esta estrutura é considerada como um importante mecanismo de proteção para a multiplicação e permanência dos microrganismos no ambiente. Visto que são mais resistentes a ação de agentes antimicrobianos, sanitizantes, e assim aos processos de limpeza e sanitização como um todo. E sua permanência no ambiente representa fonte constante de contaminação. Fato esse, que representa um grande impacto na indústria de alimentos, e conseqüentemente na saúde pública (JAY, 2005; OLIVEIRA et al., 2010).

### **2.11 Biofilme formado por *Salmonella* spp.**

O desenvolvimento e os sinalizadores genéticos envolvidos na formação de biofilme por *Salmonella* são complexos. Contudo, são conhecidos quatro importantes componentes para a estruturação destes biofilmes, que são fímbrias, celulose, polissacarídeos capsulares e lipopolissacarídeos (LPS) (CORCORAN, 2013).

Fímbrias são um dos principais componentes da matriz extracelular polisacarídea (EPS) (RÖMLING et al, 1998). As fímbrias são menores que os flagelos e tem em sua composição a proteína pilina (TORTORA et al., 2010). Além dos processos de desenvolvimento de biofilmes, as fímbrias também são associadas a processos de invasão do hospedeiro, colonização das superfícies, contato entre as células bacterianas e aumento da motilidade (SAUER et al. 2001; STEENACKERS

et. al, 2012).

De acordo com Solano et al. (2002), a celulose, um polímero de glicose, desempenha um papel importante na permanência de *Salmonella* em superfícies. A celulose bacteriana aparentemente confere proteção mecânica, química ou biológica para as células bacterianas, ou até mesmo facilita o processo de adesão celular necessário para as interações simbióticas ou infecciosas.

Existem três categorias de polissacarídeos que protegem a célula bacteriana de situações de estresse, polissacarídeo extracelular, polissacarídeo capsular e lipopolissacarídeo (CORCORAN, 2013). O polissacarídeo capsular tem função relacionada com a persistência da bactéria em ambientes, principalmente aqueles hostis, como por exemplo, protegem as células bacterianas contra o processo de dissecação. Porém, diferentemente das fímbrias e celulose, o polissacarídeo capsular não tem relação com a estruturação do biofilme. Outro polissacarídeo importante é lipopolissacarídeo, importante estrutura de bactérias Gram-negativas no estágio planctônico, que também atua na formação da estrutura dos biofilmes (GIBSON et al., 2006; CORCORAN, 2013).

## **2.12 Biofilme formado por *Salmonella* spp. na indústria de alimentos**

O processo de abate de frangos é um processo delicado, e a contaminação de carcaças resulta em grande impacto para a indústria e para a saúde pública. No decorrer das etapas de abate de frangos, as fases de sangria, escaldagem, depenagem e evisceração são as mais passíveis de ocorrer contaminação, principalmente superficial (GONZALEZ-MIRET et al., 2006; VON RÜCKERT et al. 2009). A própria microbiota intestinal dos frangos saudáveis pode contaminar as carcaças e equipamentos nas linhas de abate de abatedouros, como também bactérias presentes nas penas (SILVA, 2013). No processo de abate, a etapa de evisceração é considerada a etapa mais importante. Nesse momento, há o risco de perfuração das vísceras, o que resulta em extravasamento de material intestinal e fezes (SILVA & DUARTE, 2002).

A etapa de depenagem também configura um ponto delicado no processo de abate, pois durante a rotação da depenadeira é possível ocorrer contaminação cruzada e o material de carcaças contaminadas pode entrar em contato com as carcaças não contaminadas. Penas que permanecem no equipamento podem contaminar as próximas carcaças da linha do abate. É possível também que esta contaminação ocorra devido ao contato das carcaças com colaboradores doentes, que podem disseminar microrganismos durante a linha de abate. SILVA, 2013).

Outro ponto importante no processo de abate de frangos diz respeito a etapa de resfriamento das carcaças. Esta etapa tem o objetivo de reduzir a carga bacteriana das carcaças, porém quando não há um controle adequado poderá ocorrer contaminação deste produto, em razão da velocidade do fluxo de abate, temperaturas inadequadas no resfriamento e pré-resfriamento, e também cloração da água ineficiente (LOPES et al., 2007).

Em estudo realizado por Lopes et al. (2007), foi constada a presença de seis sorovares de *Salmonella* spp. no pré-resfriamento, e que essa contaminação pode ter ocorrido devido a temperatura inadequada do resfriamento e cloração deficiente. Rezende et al., (2008) verificaram a presença desse agente em fígados e corações que foram liberadas para o consumo e fígados e corações condenados pelo serviço de inspeção federal.

Em trabalho realizado por Von Rückert et al. (2009), os autores avaliaram a presença de *Salmonella* spp. em esfregaços superficiais em carcaças de frangos, coletadas em cinco diferentes fases do abate, e constataram que houve uma maior frequência de *Salmonella* spp. nos processos após o chuveiro de lavagem das carcaças. O pré-resfriamento foi a única etapa do processo em que foi observado o controle deste microrganismo. O que para os autores foi resultado de um controle adequado da temperatura da água e temperatura das carcaças. A alta frequência de amostras contaminadas detectadas nas fases iniciais do abate pode ter se dado devido a maior manipulação desses produtos, a contaminação cruzada e etapas de lavagem intermediárias ineficientes (VON RÜCKERT et al. 2009)



Falhas nos processos de higienização na indústria de alimentos possibilitam aderência e acúmulo de resíduos, e quando contaminados, principalmente por microrganismos formadores de biofilmes, essas superfícies e equipamentos são importantes fontes de contaminação para os alimentos. Uma vez que, quando agregados em biofilmes, a remoção destes microrganismos é dificultada, pois estas estruturas conferem maior capacidade de aderência, resistência a processo de higienização e também a antimicrobianos (OLIVEIRA, 2011; DANTAS, 2014; ZIECH, 2015).

Quando presentes em indústrias de alimentos, os biofilmes acarretam prejuízos consideráveis. E isto é decorrente da capacidade de permanência dessas estruturas nas superfícies. Uma vez que conseguem desenvolver estratégias de sobrevivência, que lhes configuram uma maior resistência, quando submetidos a situações de estresse, o que dificulta sua remoção das superfícies. Além disto, acarretam danos à saúde pública, por facilitarem a permanência de microrganismos patogênicos, que acarretam enfermidades aos consumidores, além de microrganismos deteriorantes que ocasionam a depreciação do produto final por alterações organolépticas (KASNOWSKI et al., 2010; BRIDIER et al., 2014; MARTIN, 2015; SINGH et al., 2017).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral:**

Avaliar a capacidade de produção de biofilme, o perfil de susceptibilidade e detectar genes de resistência presentes em cepas de *Salmonella* spp. isoladas de carne de frango *in natura* comercializada em mercados públicos de Recife – PE.

#### **3.2 Objetivos Específicos:**

- Isolar e identificar o gênero *Salmonella* spp. em amostras de carne de frango *in natura* comercializadas em mercados públicos de Recife – PE;

- Avaliar a capacidade de formação de biofilme dos isolados de *Salmonella* spp. em amostras de carne de frango *in natura* comercializadas em mercados públicos de Recife – PE;
- Avaliar a resistência aos antimicrobianos e a presença de genes de resistência em isolados de *Salmonella* spp. em amostras de carne de frango *in natura* comercializadas em mercados públicos de Recife – PE.

#### 4. REFERÊNCIAS

- AARESTRUP, F.M.; HASMAN, H.; OLSEN, I.; SORENSEN, G. International spread of *bla* (CMY-2)-mediated cephalosporin resistance in a multiresistant *Salmonella enterica* serovar Heidelberg isolate stemming from the importation of a boar by Denmark from Canada. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v.48, n.5, p.1916-7, 2004.
- ABPA, Associação Brasileira de Proteína animal-ABPA. **Relatório Anual 2018**, São Paulo 2018. Disponível em: <<http://abpa-br.com.br/setores/avicultura/publicacoes/relatorios-anuais/2018>>. Acesso em: 13 de Agosto de 2019.
- AKBAR, A. & ANAL, A. K. Prevalence and antibiogram study of *Salmonella* and *Staphylococcus aureus* in poultry meat, **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, vol. 3, n. 2, p. 163 – 168, 2013.
- ALEKSHUN, M. N.; LEVY, S. B. Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance, **Cell**, v. 128, n. 6, p. 1037-1050, 2007.
- ALI, T.; RAHMAN, S.U.; ZHANG, L.; SHAHID, M.; HAN, D.; GAO, J.; ZHANG, S.; RUEGG, P.L.; SADDIQUE, U.; HAN, B. Characteristics and genetic diversity of multi-drug resistant extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* isolated from bovine mastitis, **Oncotarget**, 2017, v.8, n.52, p.90144-63.
- ÁLVAREZ-FERNÁNDEZ, E; ALONSO-CALLEJA, C; GARCÍA-FERNÁNDEZ, C; CAPITA, R, Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* serotypes isolated from poultry in Spain: Comparison between 1993 and 2006, **International Journal of Food Microbiology**, n. 153, p. 281 – 287, 2012. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.11.011
- AMBLER, R. P. **The structure of beta-lactamases**, **Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences**, v. 289, n. 1036, p. 321–331, 1980.
- ANTUNES, P.; MOURÃO, J.; CAMPOS, J.; PEIXE, L. Salmonellosis: the role of poultry meat, *Clinical Microbiology and Infection*, **European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, Elsevier, vol. 22, p. 110 – 121, 2015.
- AZEVEDO, S. M. M. **Farmacologia dos Antibióticos Beta-lactâmicos**. [s.l.] Universidade Fernando Pessoa, 2014.
- BARILLI, E.; BACCI, C.; VILLA, Z.S.; MERIALDI, G.; D'INCAU, M.; BRINDANI, F.; VISMARRA, A. Antimicrobial resistance, biofilm synthesis and virulence genes in *Salmonella* isolated from pigs bred on intensive farms. **Italian Journal of Food Safety**, 2018, v.7, p.7223.
- BELL, C.; KYRIAKIDES, A. *Salmonella*: a practical approach to the organism and its control in foods. Iowa: **Blackwell Science**, 2002.
- BHUNIA, A. K. **Foodborne Microbial Pathogens: Mechanisms and Pathogenesis**, U.S.A, Springer, Food science text series, 2008.

BOARI, C. A.; ALVES, M. P.; MAXIMILIANO, V. R. T, SAVIAN, T. V, PICCOLI, R. H, Formação de biofilme em aço inoxidável por *Aeromonas hydrophila* e *Staphylococcus aureus* usando leite e diferentes condições de cultivo, **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 2008, n. 003244, p. 886–895, 2009.

BOYEN, F, EECKHAUT, F, VAN IMMERSEEL, F, VAN; PASMANS, R. D, HAESBROUCK, Quorum sensing in veterinary pathogens: Mechanisms: clinical importance and future perspectives. **Veterinary Microbiology**, v. 135, p. 187–195, 2009.

BOLLAERTS, K.; AERTES, M.; FAES, C.; GRIJSPEERDT, K.; DEWULF, J.; MINTIENS, K. Human salmonellosis: estimation of dose-illness from outbreak data. **Risk Analysis**, v.28, n.2, p. 427-440, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde, **Secretária de Vigilância em Saúde de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil**, junho de 2018, disponível em: <<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/julho/02/Apresentacao-Surtos-DTA-Junho-2018.pdf>>, acesso em: 07 de novembro de 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde, **Secretária de Vigilância em Saúde de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil**, Fevereiro de 2019, disponível em: <[http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/fevereiro/15/Apresenta o-Surtos-DTA---Fevereiro-2019.pdf](http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/fevereiro/15/Apresenta_o-Surtos-DTA---Fevereiro-2019.pdf)>, acesso em: 13 de agosto de 2019.

BRIDIER, A., SANCHEZ-VIZUETE, P., GUILBAUD, M., PIARD, J.-C., NAÏTALI, M., BRIANDET, R., Biofilm-associated persistence of food-borne pathogens, **Food Microbiology** 2014. doi:10.1016/j.fm.2014.04.015.

BUSH, K.; JACOBY, G. A.; MEDEIROS, A. A. A functional classification scheme for  $\beta$ -lactamases and its correlation with molecular structure Antimicrobial Agents and Chemotherapy, **American Society for Microbiology**, 1995.

BUSH, K.; JACOBY, G. A. **Updated functional classification of  $\beta$ - lactamases Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 2010.

CAIXETA, D. S., **Sanificantes químicos no controle de biofilmes formados por duas espécies de Pseudomonas em superfície de aço inoxidável**. [dissertação de mestrado] apresentada na Universidade Federal de Lavras – MG, Brasil, 2008.

CAIAZZA, N. C.; O'TOOLE, G. A. SadB Is Required for the Transition from Reversible to Irreversible Attachment during Biofilm Formation by *Pseudomonas aeruginosa* PA14. **Journal of Bacteriology**, v.186, p.4476-4485, 2004.

CARDOSO, T. G., CARVALHO, M. V, Toxinfecção alimentar por *Salmonella* spp, **Revista Instituto Ciência e Saúde**, vol. 24, n. 2, p. 95 – 101, 2006.

CASELLA, T.; NOGUEIRA, M.C.L.; SARAS, E.; HAENNI, M.; MADEC, JY. High prevalence of ESBLs in retail chicken meat despite reduced use of antimicrobials in chicken production, France. **International Journal of Food Microbiology**, 2017, v.257, p.271–275.

CHANG, H-S. Overview of the World Broiler Industry: Implications for the Philippines, **Asian Journal of Agriculture and Development**, 4(2), p. 67 - 82, 2007.

CORCORAN, M. **Salmonella enterica - biofilm formation and survival of disinfection treatment on food contact surfaces**. 2013. National University of Ireland, Galway.

DANTAS, S. T. A, **Transferência de *Salmonella* Enteritidis por contaminação cruzada e formação de biofilme em diferentes superfícies de corte**, [dissertação], São Paulo, 2014.

DAVEY, M. E., O'TOOLE, G. A, Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics, **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, vol. 64, p. 847–867, 2000.

D'AOUST, J. Y.; MAURER, J. *Salmonella* species. In: DOYLE, M. P.; BEUCHAT, L. R. (Ed). **Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers**. Washington: ASM Press, 2007.

DONLAN, R.M, Biofilms: microbial life on surfaces, **Emerging Infectious Diseases**, v.8, n.9, p.881–890, 2002.

DOUMITH, M.; GODBOLE, G.; ASHTON, P.; LARKIN, L.; DALLMAN, T.; DAY, M.; DAY, M.; MULLER-PEBODY, B.; ELLINGTON, M.J.; DE PINNA, E.; JOHNSON, A.P.; HOPKINS, K.L.; WOODFORD, N. Detection of the plasmid-mediated *mcr-1* gene conferring colistin resistance in human and food isolates of *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* in England and Wales. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 2016, v.71, p.2300–05.

EFSA, EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY, The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016, EFSA (European Food Safety Authority) e European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016, **EFSA Journal**, n. 15, v. 12, 228 pp, 2017.

EJECHI, B. O E OCHEI, O. P, Bacteriological safety assessment, hygienic habits and cross- contamination risks in a Nigerian urban sample of household kitchen environment, **Environment Monitoring Assess**, v. 189, n. 298, p.291 - 298, 2017. doi: 10.1007/s10661-017-6016-1.

FERNÁNDEZ, J.; GUERRA, B.; RODICIO, M.R. Resistance to Carbapenems in NonTyphoidal *Salmonella enterica* Serovars from Humans, Animals and Food. **Veterinary Sciences**, v.5, n.2, p.40, 2018.

FINCH, R.; DAVEY, P.; WILCOX, M. H.; IRVING, W. Antimicrobial Chemotherapy, **6ª ed. Oxford**, 2012, p. 137.

FLEMMING, H-S, WINGENDER, J., SZEWZYK, U., STEINBERG, P., RICE, S.A., KJELLEBERG, S., Biofilms: an emergent form of bacterial life, *Nature Reviews*, **Microbiology**, Vol. 14, setembro, 2016.

FLORES, G. E; BATES, S. T; CAPORASO, J. G; LAUBER, C. L; LEFF, J. W; KNIGHT, R; FIERER, N, Diversity, distribution and sources of bacteria in residential kitchens, Howard Hughes Medical Institute, **Environment Microbiology**, v. 15, n. 2, p. 588 – 596, 2013.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2005.

GEBREYES, W. A; WITTUM, T; HABING, G; ALALI, W; USUI, M; SUZUKI, S; Spread of Antibiotic Resistance in Food Animal Production Systems, chapter 4, **Foodborne Diseases**, Third edition, p. 105 – 130, 2017. doi:10.1016/B978-0-12-385007-2.00004-8.

GIBSON, D. L.; WHITE, A. P.; SNYDER, S. D.; et al. Salmonella Produces an O Antigen Capsule Regulated by AgfD and Important for Environmental Persistence. **Journal of Bacteriology**, 2006.

GIURIATTI, J.; STEFANI, L.M.; BRISOLA, M.C.; CRESCENCIO, R.B.; BITNER, D.S.; FARIA, G.A. *Salmonella* Heidelberg: Genetic profile of its antimicrobial resistance related to 58 extended spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBLs). **Microbial Pathogenesis**, 2017, v.109, p.195- 199.

GONZALEZ-MIRET, M.L; ESCUDERO-GILETE, M.L; HEREDIA, F.J. The establishment of critical control points at the washing and air chilling stages in poultry meat production using multivariate statistic. **Food Control**. Reading, V.17, p. 935-945, 2006.

GONZÁLEZ-RIVAS, F; RIPOLLES-AVILA, C; FONTECHA-UMANA, F; RÍOS-CASTILLO, A. G; RODRÍGUEZ-JEREZ, J. J, Biofilms in the Spotlight: Detection, Quantification, and Removal Methods, Institute of Food Technologists, **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 0, p. 1 – 16, 2018. doi: 10.1111/1541-4337.12378.

GUIBOURDENCHE, M.; ROGGENTIN, P.; MIKOLEIT, M.; FIELDS, P. I.; BOCKEMUHL, J.; GRIMONT, P.A.D.; WEILL, F. Supplement 2003-2007 (No. 47) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme. **Research in Microbiology**, Paris, v. 161, n. 1, p. 26-29, 2010.

HOUDT, R. V; MICHIELS, C. W, Biofilm formation and the food industry, a focus on the bacterial outer surface, **Journal of Applied Microbiology**, n. 109, p. 1117–1131, 2010. doi: 10.1111/j.1365-2672.2010.04756.x.

ISSENHUTH-JEANJEAN, S; ROGGENTIN, P; MIKOLEIT, M; GUIBOURDENCHE, M; DE PINNA, E; NAIR, S; FIELDS, I. P; WEILL, FRANÇOIS-XAVIER, Supplement 2008 - 2010 (no. 48) to the White – Kauffmann - Le Minor scheme , *Research in Microbiology* (2014), <http://dx.doi.org/10.1016/j.resmic.2014.07.004>.

IST. Grupo de Ciências Biológicas do Instituto Superior Técnico. Universidade Técnica de Lisboa. **Crescimento microbiano em biofilmes**. Publicado em 2005, revisto em 2008. Disponível em < <http://e-escola.tecnico.ulisboa.pt/topico.asp?id=354&ordem=2>>. Acesso em: 17 de maio de 2019.

JAY, J.M. **Microbiologia de Alimentos**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 711 p., 2005.

KASNOWSKI, M. C.; MANTILLA, S. P. S.; OLIVEIRA, L. A. T.; FRANCO, R. M. Formação de biofilme na indústria de alimentos e métodos de validação de superfícies. **Revista Científica Eletrônica De Medicina Veterinária**. Ano VIII – Número 15 – 2010.

KIRBIS, A; KRIZMAN, M; Spread of antibiotic resistant bacteria from food of animal origin to humans and vice versa, In: International 58th Meat Industry Conference “Meat Safety and Quality: Where it goes?”, **Procedia Food Science**, n. 5, p. 148 –

151, 2015.

KYAW, C.M. **Biofilmes Microbianos**, 2008. Disponível em <<http://www.unb.br/ib/cel/microbiologia/biofilme/biofilme>>, acesso em: 17 de maio de 2019.

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. 180p. 30-38, 2014.

LEONÍDIO, A. R. A. et al. Genes de resistência aos antimicrobianos de *Salmonella* sp. **Jornal Brasileiro de Ciência Animal**, p. 574-614, 2015.

LESCAT, M.; POIREL, L.; NORDMANN, P. Rapid multiplex polymerase chain reaction for detection of *mcr-1* to *mcr-5* genes. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, 2018, v.92, n.4, p.267-269.

LIU, Y. Y.; WANG, Y.; WALSH, T. R.; YI, L. X.; ZHANG, R.; SPENCER, J.; DOI, Y.; TIAN, G.; DONG, B.; HUANG, X.; YU, L. F.; GU, D.; REN, H.; CHEN, X.; LV, L.; HE, D.; ZHOU, H.; LIANG, Z.; LIU, J. H.; SHEN, J. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study, **The Lancet Infectious Diseases**, 2016, v.16, n.2, p.161-168.

LOPES M.; GALHARDO J. A.; OLIVEIRA J. T.; TAMANINI, R.; SANCHES S. F.; MULLER F. E. Pesquisa de *Salmonella* spp. e micro-organismos indicadores em carcaças de frango e água de tanques de pré-resfriamento em abatedouros de aves. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 28, n.3, p. 465 -476, 2007.

LUGITO, N. P. H.; & CUCUNAWANGSIH, Antimicrobial Resistance of *Salmonella enterica* Serovars Typhi and Paratyphi Isolates from a General Hospital in Karawaci, Tangerang, Indonesia: A Five-Year Review, **International Journal of Microbiology**, Hindawi, vol. 2017, p. 1 – 7, 2017.

MAHMOUD BSM, ed. *Salmonella – A Dangerous Foodborne Pathogen*. In Tech; 2012:157–180. Disponível em: <<http://www.intechopen.com/books/salmonella-a-dangerous-foodborne-pathogen/attachmentand-biofilm-formation-by-salmonella-in-food-processingenvironments>>. Acesso em: 11 de agosto de 2019.

MARTIN, J. G. P. **Biofilmes de *Staphylococcus aureus* isolados de laticínios produtores de queijo Minas Frescal**. Tese – Universidade de São Paulo/Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. 2015.

MAROTTA, S. M; GIARRATANA, F; CALVAGNA, A; ZIINO, G; GIUFFRIDA, A; PANEBIANCO, A , Study on microbial communities in domestic kitchen sponges: Evidence of *Cronobacter sakazakii* and Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL) producing bacteria, **Italian Journal of Food Safety**, v. 7, n. 7672, p. 193 – 198, 2018. doi:10.4081/ijfs.2018.7672.

MENKEM, Z. E; NGANGOM, B. L; TAMUNJOH, S. S. A; BOYOM, F. F; Antibiotic residues in food animals: Public health concern, **Acta Ecologica Sinica**, p. 1 – 5, 2018. doi: 10.1016/j.chnaes.2018.10.004.

MIRIAGOU, V.; TASSIOS, P. T.; LEGAKIS, N. J.; TZOUVELEKIS, L. S. Expanded spectrum cephalosporin resistance in non-typhoid *Salmonella*. **International journal**

of antimicrobial agents, v. 23, n. 6, p. 547–55, 2004.

MOREHEAD, M. S.; SCARBROUGH, C. Emergence of Global Antibiotic Resistance. **Prim Care**, v. 45, n. 3, p. 467-484, Sep 2018. ISSN 1558-299X (Electronic) 0095-4543 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30115335> >.

MUNOZ-PRICE, L. S.; POIREL, L.; BONOMO, R. A.; SCHWABER, M. J.; DAIKOS, G. L.; CORMICAN, M.; CORNAGLIA, G.; GARAU, J.; GNIADKOWSKI, M.; HAYDEN, M. 2179 K.; KUMARASAMY, K.; LIVERMORE, D. M.; MAYA, J. J.; NORDMANN, P.; PATEL, J. B.; PATERSON, D. L.; PITOUT, J.; VILLEGAS, M. V.; WANG, H.; WOODFORD, N.; QUINN, J. P. Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases, **The Lancet Infectious Diseases**, 2013 v. 13, p. 785-796.

NAAS, T.; DORTET, L.; IORGA, B. I. Structural and Functional Aspects of Class A Carbapenemases. **Curr Drug Targets**, v. 17, n. 9, p. 1006-28, 2016. ISSN 1873-5592 (Electronic) 1389-4501 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26960341> >.

O'BRIEN, T.F. Emergence, spread, and environmental effect of antimicrobial resistance: how use of an antimicrobial anywhere can increase resistance to any antimicrobial anywhere else. **Clin. Infect. Dis.**, v.34 (suppl. 3), S78-84, p.78-84, 2002.

OLIVEIRA, A. L.; PEREIRA, M. T.; BUENO, P. H. S.; OLIVEIRA, R. B. P.; PINTO, F. C.; CORREIA, R. F.; MACHADO, M. M. Qualidade microbiológica da carne de frango irradiada em embalagem convencional e a vácuo, **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 5, p. 1210-1217, 2009.

OLIVEIRA, D. C. V. **Produção de biofilme por *Salmonella* sp. isolada de frango**. 2011. 83f. Dissertação (Mestrado em Biologia Geral e Aplicada) – Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

OLIVEIRA, M. M. M. BRUGNERA, D. F.; PICCOLI, R. H. Biofilmes microbianos na indústria de alimentos: uma revisão, **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.69, n.3, p.277-84, 2010.

OLOBATOKE, R. Y. Public health burden of non-typhoidal *Salmonella* strains in sub-Saharan Africa, **International Research Journal of Public and Environmental Health**, vol. 4, n. 6, p. 112 – 119, 2017.

OVERDEVEST, I. et al. Extended spectrum beta-lactamase genes of *Escherichia coli*. In: chicken meat and humans, the Netherlands. **Emerging Infectious Diseases**, v. 17, p. 1216- 22, 2011.

PALZKILL, T. Structural and Mechanistic Basis for Extended-Spectrum Drug-Resistance Mutations in Altering the Specificity of TEM, CTX-M, and KPC beta-lactamases. **Front Mol Biosci**, v. 5, p. 16, 2018. ISSN 2296-889X (Print) 2296-889X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29527530> >.



POIREL, L.; KIEFFER, N.; FERNANDEZ-GARAYZABAL, J.F.; VELA, A.I.; LARPIN, Y.; NORDMANN, P. MCR-2-mediated plasmid-borne polymyxin resistance most likely originates from *Moraxella pluranimalium*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 2017, v.72, p.2947–9.

QIAO, J.; ZHANG, Q.; ALALI, W.Q.; WANG, J.; MENGA, L.; XIAO, Y.; YANG, H.; CHEN, S.; CUI, S.; YANG, B. Characterization of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBLs)- producing *Salmonella* in retail raw chicken carcasses. **International Journal of Food Microbiology**, 2017, v.248, p.72–81.

RAHMAN, S.U.; ALI, T.; ALI, I.; KHAN, N.A.; HAN, B.; JIAN GAO, J. The growing genetic and functional diversity of extended spectrum beta-lactamases. **BioMed Research International**, 2018, v.2018, p.9519718.

REDMOND, E. C.; GRIFFITH, C. J.; SLADER, J.; HUMPHREY, T. J. Microbiological and observational analysis of cross contamination risks during domestic food preparation. **British Food Journal**, v. 106, n. 8, p. 581-597, 2004.

RÖMLING, U., BIAN, Z., HAMMAR, M., SIERRALTA, W. D., NORMARK, S., Curli fibers are highly conserved between *Salmonella* Typhimurium and *Escherichia coli* with respect to operon structure and regulation. **Journal of Bacteriology**, v. 180, n 3, p. 722 - 731, 1998.

SANCHEZ-MALDONADO, A. F., et al. Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from two pork processing plants in Alberta, Canada. **International Journal of Food Microbiology**, 2017, v. 241, p. 49-59.

SANTIAGO, G.S.; DA MOTTA, C.C.; BRONZATO, G.F.; GONÇALVES, D.; DE SOUZA, M.M.S.; COELHO, I.S.; FERREIRA, H.N.; OLIVEIRA COELHO, S.M.O. Revisão: Produção de  $\beta$ -lactamases do tipo AmpC em *Enterobacteriaceae*. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, 2016, v.38, p.17-30.

SEFTON, A.M. Mechanisms of antimicrobial resistance their clinical relevance in the new millennium, **Drugs**, v.62, n.4, p.557-66, 2002.

SHINOHARA, N. K. S.; BARROS, V. B.; JIMENEZ, S. M. C.; MACHADO, E. C. L.; DUTRA, R. A. F.; FILHO, J. L.L. *Salmonella* spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos, **Ciência & Saúde Coletiva**, vol. 13, n. 5, p. 1675 – 1683, 2008.

SILVA E. N.; DUARTE A. *Salmonella* Enteritidis em aves: retrospectiva no Brasil, **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.4, n.2, p.85-100, 2002.

SINGH, S., YADAV, A.S., SINGH S.M., BHARTI, P., Prevalence of *Salmonella* in chicken eggs collected from poultry farms and marketing channels and their antimicrobial resistance, **Food Research International**, n. 43, 2010.

SINGH, S; SINGH, S. K; CHOWDHURY, I; SINGH, R, Understanding the Mechanism of Bacterial Biofilms Resistance to Antimicrobial Agents, **The Open Microbiology Journal**, n. 11, p. 53 – 62, 2017.

SOLANO, C.; GARCIA, B.; VALLE, J.; BERASAIN, C.; GHIGO, J.M.; GAMAZO, C.; LASA, I., Genetic analysis of *Salmonella* enteritidis biofilm formation: critical role of cellulose. **Molecular Microbiology**, v.43, p.793–808, 2002.

- SOUZA, R. B; MAGNANI, M; OLIVEIRA, T. C. R. M, Mecanismos de resistência às quinolonas em *Salmonella* spp., **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 413 - 428, abr./jun. 2010.
- STURENBURG, E. et al. Evaluation of a new screen agar plate for detection and presumptive identification of *Enterobacteriaceae* producing extended-spectrum beta-lactamases. **Diagnosis Microbiology Infection Diseases**, v. 51, p.51-5, 2005.
- STEENACKERS, H.; HERMANS, K.; VANDERLEYDEN, J.; DE KEERSMAECKER, S.C.J. *Salmonella* biofilms: An overview on occurrence, structure, regulation and eradication. **Food Research International**, 2012, v.45, p.502–531.
- SUN, S.; NEGREA, A.; RHEN, M.; ANDERSSON, D.I. Genetic analysis of colistin resistance in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 2009, v.53, n.6, p.2298-2305.
- TIPPELSKIRCH, P.V.; GÖLZ, G.; PROJAHN, M.; DAEHRE, K.; FRIESE, A.; ROESLER, U.; ALTER, T.; ORQUERA, S. Prevalence and quantitative analysis of ESBL and AmpC betalactamase producing *Enterobacteriaceae* in broiler chicken during slaughter in Germany. **International Journal of Food Microbiology**, 2018, v.281, p.82–89.
- VESTBY, L. K.; MØRETRØ, T.; LANGSRUD, S.; HEIR, E.; NESSE, L. L. Biofilm forming abilities of *Salmonella* are correlated with persistence in fish meal- and feed factories. **BMC veterinary research**, v. 5, p. 20, 2009.
- VON RÜCKERT, D.A.S, PINTO, P.S. A, SANTOS, B. M, MOREIRA, M. A. S, RODRIGUES, A. C. A, Pontos críticos de controle de *Salmonella* spp. no abate de frangos, **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 2, p. 326-330, 2009.
- WESSLING, C. G, **Penetração de *Salmonella* em peitos de frango mantidos em diferentes temperaturas de refrigeração e relação com a presença da microbiota deterioradora**, [dissertação], 88p, Palotina, 2014.
- WHITE, A.P.; WELJIE, A.M.; APEL, D.; ZHANG, P.; SHAYKHUTDINOV, R.; VOGEL, H. J.; et al, A global metabolic shift is linked to *Salmonella* multicellular development. **PLoS ONE**, v.5, n.7, e11814, 2010.
- XAVIER, B.B.; LAMMENS, C.; RUHAL, R.; KUMAR-SINGH, S.; BUTAYE, P.; GOOSSENS, H.; MALHOTRA-KUMAR, S. Identification of a novel plasmid-mediated colistin-resistance gene, *mcr-2*, in *Escherichia coli*, Belgium, June 2016. **Euro Surveill**, 2016, v.21, n.27.
- YIN, W.; LI, H.; SHEN, Y.; LIU, Z.; WANG, S.; SHEN, Z.; RONG, Z.; TIMOTHY, R.W.; JIANZHONG, S.; YANG, W. Novel plasmid-mediated colistin resistance gene *mcr-3* in *Escherichia coli*. **MBio**, 2017, v.8, n.3, p. e00543-17.

## 5. ARTIGO

### **DETECÇÃO DE GENES DE RESISTÊNCIA EM ISOLADOS DE *Salmonella spp.* FORMADORES DE BIOFILME ORIUNDOS DE CARÇAÇAS DE FRANGO IN NATURA**

(A ser submetido ao periódico Food Science and Technology International -  
Qualis A2)

## **Detecção de genes de resistência em isolados de *Salmonella* spp. formadores de biofilme oriundos de carcaças de frango *in natura* comercializada em mercados públicos**

### **Detection of resistance genes in *Salmonella* spp. biofilm former from fresh poultry carcasses sold in public markets**

Nataly Sayonara da Silva Melo<sup>1</sup>, Elizabeth Sampaio de Medeiros<sup>1</sup>

1. Programa de pós-graduação em Biociência Animal - Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)

#### **RESUMO**

O objetivo deste trabalho foi isolar, avaliar a capacidade de produção de biofilme, o perfil de susceptibilidade, e detectar a presença de genes de resistência em cepas de *Salmonella* spp. isoladas de carne de frango *in natura*. 21 carcaças de frango foram positivas para a presença de *Salmonella* spp. Todos os isolados formaram biofilme, e foram classificados como fracos formadores de biofilme. Em relação ao perfil de susceptibilidade a antimicrobianos, 47,61% (10/21), 42,85% (09/21), 4,76% (01/21), 14,28% (03/21), 23,80% (05/21), 47,61% (10/21) do total de amostras foram resistentes a ampicilina, cefotaxima, cloranfenicol, ciprofloxacina, e sulfametoxazol + trimetoprim, respectivamente. Os genes de resistências *bla*TEM-like, *bla*CTX-M-like, *qnrA*, *qnrB* e *qnrD* foram detectados nas cepas isoladas. A presença de genes de resistência em cepas de *Salmonella* spp. capazes de formar biofilme provenientes de carcaças de frango no presente estudo é preocupante, uma vez que tais genes conseguem ser disseminados por toda a cadeia de alimentos, e configuram assim riscos à saúde pública, visto que a presença de cepas patogênicas de *Salmonella* spp. e multirresistentes a antimicrobianos comprometem o tratamento das infecções e acarretam prejuízos a saúde dos consumidores.

**Palavras-chave:** *Salmonella* spp., genes de resistência,  $\beta$ -lactâmicos, infecção alimentar

#### **ABSTRACT**

The aim of this research was to isolate and evaluate the biofilm formation capacity, and also the susceptibility profile to antimicrobials, and the detection of resistance genes in *Salmonella* spp. strains from fresh poultry carcasses. 21 poultry carcasses were positive to the presence of *Salmonella* spp. All the 21 strains formed biofilm and were classified as weak biofilm former. The susceptibility profile to antimicrobials, 47,61% (10/21), 42,85% (09/21), 4,76% (01/21), 14,28% (03/21), 23,80% (05/21), 47,61% (10/21) of the strains were resistant to ampicillin, cefotaxime, chloramphenicol, ciprofloxacin and sulfamethoxazole + trimethoprim, respectively. *bla*TEM-like, *bla*CTX-M-like, *qnrA*, *qnrB* e *qnrD* genes were detected in the strains. The presence of these genes in *Salmonella* spp. strains biofilm former isolated from Poultry carcasses in this study is alarming, as these genes can be transmitted in the

whole production chain. Therefore, it can be considered a public health problem, since Pathogenic and multidrug resistant *Salmonella* spp. strains may affect the treatment of infections, thus brings losses to the health of the consumers.

**Key-words:** *Salmonella* spp., resistance genes,  $\beta$ -lactâmicos, foodborne illness

## 5.1 INTRODUÇÃO

A salmonelose é uma doença de origem alimentar, e é caracterizada por febre, dor abdominal e diarreia e, em pacientes imunodeprimidos pode causar o óbito, o que resulta em um problema de saúde pública. Os agentes causadores desta enfermidade são bactérias patogênicas do gênero *Salmonella*. A transmissão de espécies de *Salmonella* spp para os seres humanos é dada através do consumo de alimentos ou água contaminados (CDC, 2020; WHO, 2020).

Estudos microbiológicos quantitativos relacionados com o isolamento de *Salmonella* spp. em carne de frango, tanto em carcaças inteiras, quanto em cortes específicos, tem sido realizados no mundo. E tem sido observado forte ligação entre a incidência de contaminação de carne de frango por *Salmonella* spp. e a infecção causada por *Salmonella* spp. em seres humanos, salmonelose (DRUZIANE et. al 2013; KHAN et. al, 2018; BAPTISTA et al, 2018; ALMASHHADANY, 2019; REGALADO-PINEDA et. al, 2020).

De acordo com o Centro para Doenças, Controle e Prevenção (CDC), cerca de 1,2 milhões de casos de infecção, 23.000 hospitalizações, e 450 mortes por ano nos Estados Unidos da América são relacionados com *Salmonella* spp. E as infecções relacionadas com o consumo de alimentos contaminados representam cerca de 1 milhão destes casos (CDC, 2019). No Brasil, segundo dados do Ministério da Saúde, foram notificados no período de 2000 a 2017 um total de 12,660 casos de doenças transmitidas por alimentos, e *Salmonella* spp. foi um dos agentes mais identificados nestes casos, o que representou 35% do total de casos notificados (BRASIL, 2018).

Na maioria dos casos de salmonelose o tratamento não é necessário em pacientes imunologicamente aptos. Contudo, pacientes imunodeprimidos precisam passar por tratamento (SERENO et al, 2017). Porém, o uso indiscriminado de antimicrobianos, principalmente na produção animal, tem favorecido a resistência dos microrganismos frente a estes agentes terapêuticos. O que resulta em um número limitado de opções de antimicrobianos, e assim por vezes na ineficácia dos tratamentos (ALEKSHUN e LEVY, 2007; PENG et al, 2014; MENKEM et al, 2018).

Além da resistência antimicrobiana, existem ainda microrganismos que possuem a habilidade de formar biofilmes, e este fator acarreta ainda maior preocupação para a indústria de alimentos, como também para a saúde pública. Biofilmes são complexos compostos por microrganismos, que podem ser de uma mesma espécie ou de espécies diferentes, que juntos se aderem a superfícies bióticas ou abióticas. Este complexo de células microbianas é embebido por uma

matriz extracelular, que é composta em sua maioria por exopolissacarídeos; e são a forma predominante de crescimento dos microrganismos na natureza (DAVEY e O'TOOLE, 2000; DONLAN, 2002; FLEMMING et al., 2016).

A presença de biofilmes em equipamentos utilizados em indústrias de alimentos gera grandes prejuízos para o setor. Esses prejuízos são relacionados principalmente com o a perda do alimento, que sofre processo de deterioração uma vez que ocorra o crescimento de microrganismos em sua superfície. Além disso, a remoção de biofilmes das superfícies é uma tarefa laboriosa, uma vez que são resistentes aos processos de estresse, como os processos de higiene e sanificação. Desta forma, essas estruturas configuram proteção as bactérias, o que torna sua eliminação dificultada em situações desfavoráveis, como a ação de agentes antimicrobianos. Quando os alimentos são contaminados por bactérias patogênicas, há ainda riscos para a saúde pública (KASNOWSKI et al., 2010).

O objetivo do presente estudo foi avaliar a capacidade de produção de biofilme, o perfil de susceptibilidade e detectar genes de resistência presentes em isolados de *Salmonella* spp. oriundos de carcaças de frango *in natura* comercializados em mercados públicos da cidade do Recife – PE.

## 5.2 MATERIAL E MÉTODOS

### Coleta de amostras

Foram adquiridas 61 amostras de carcaças de frango em um total de 08 mercados públicos da cidade do Recife – PE. Após a compra, as amostras foram transportadas para o laboratório de Inspeção de carne e leite (LICAL), do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), onde posteriormente foram submetidas a análises

### Isolamento e Identificação

As amostras foram processadas de acordo com metodologias descritas por Brasil (2003) e (Brasil 2011). Inicialmente, as carcaças foram retiradas assepticamente de suas embalagens originais, e em seguida foram pesadas 25 gramas de cada amostra e depositadas em sacos estéreis *stomacher* com 250 mL de água peptonada tamponada (Merck®) para a etapa de pré-enriquecimento, e em seguida homogeneizados por um minuto em aparelho *stomacher*. Após processadas, as amostras foram então incubadas em estufa bacteriológica overnight a  $36 \pm 1$  °C. Após a incubação, de cada amostra, 1,0 mL do caldo pré-enriquecido foi transferido para 9 mL de caldo Rappaport Vassiliadis (CRV) (Himedia®) e 0,1 mL transferidos para caldo Tetrionato (Himedia®), e incubados overnight em banho maria a de  $42 \pm 0,2$  °C e  $35 \pm 1$  °C, respectivamente.

Em seguida, uma alçada de cada amostra enriquecida foi semeada em placas de Petri com meio de cultura seletivo e diferencial, Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD) (Kasvi®) e Hektoen Enteric Ágar (HE) (Kasvi®),

respectivamente, e incubadas overnight a  $36 \pm 1$  °C. Após este período, foram observadas nas placas colônias típicas de *Salmonella* spp. Diante dessa observação, um total de três colônias típicas foram retiradas das placas e submetidas a testes bioquímicos e sorológicos (BRASIL 2003; BRASIL, 2011).

### **Produção de biofilme**

A avaliação da capacidade da produção de biofilme foi executada de acordo com metodologia proposta por Rodrigues et al. (2010). E a leitura da densidade óptica (DO), e a classificação quanto a capacidade de formação de biofilme de casa isolado foi dada de acordo com Stepanovic et al (2007).

### **Perfil de sensibilidade antimicrobiana**

O perfil de susceptibilidade antimicrobiana foi testado pelo método de disco difusão Kirby-Bauer de acordo com as normas e interpretação do Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) (2019). E os discos para antibiograma testados foram ampicilina, clorafenicol, ciprofloxacino, ceftriaxona, sulfametoxazol/trimetoprim, imipenem, amoxicilina/ácido + clavulânico, ceftazidima, cefotaxima e aztreonam (Laborclin®).

### **Teste de disco-aproximação para detecção de beta-lactamases**

O teste de detecção de enzimas beta-lactamases de espectro estendido (ESBL) foi realizado pela técnica de disco de aproximação de acordo com a metodologia de Lezameta, Gonzalez e Tamariz (2010). E os discos utilizados para este teste foram: amoxicilina/ácido clavulânico, aztreonam, ceftazidima, ceftriaxone, e cefepime.

### **Teste de Hodge Modificado**

Para a detecção de enzimas carbapenemases foi realizado o teste de Hodge Modificado, de acordo com Anderson et. al (2007).

### **Análises Moleculares para detecção de genes de resistência**

#### **Detecção dos genes de Resistência**

Por meio da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), foi realizada pesquisa de genes que conferem resistência aos  $\beta$ -lactâmicos, quinolonas e sulfonamidas.

#### **Detecção dos genes de $\beta$ -lactamases**

A investigação dos genes de  $\beta$ -lactamases foi realizada por diferentes PCR uniplex, como descrito na tabela 1. As reações visaram detectar a presença dos genes *bla*CTX-M, *bla*SHV, *bla*TEM e *bla*KPC-2. E os primers utilizados ao longo das reações estão listados na tabela 1.

**Tabela 1.** *Primers* utilizados para detecção dos genes de  $\beta$ -lactamases.

Primer		Sequência 5' 3'	Gene alvo	Produto	Referência
KPC	F	TGTCACTGTATCGCCGTC	<i>bla<sub>KPC</sub></i>	1011pb	Bratu S et. al., 2005
	R	CTCAGTGCTCTACAGAAAACC			
CTX-M	F	SCSATGTGCAGYACCAGTAA	<i>bla<sub>CTXM</sub></i>	500pb	
	R	CCGCRATATGRTTGGTGGTG			
TEM	F	TCGGGGAAATGTGCGCG	<i>bla<sub>TEM</sub></i>	700pb	Cao V, et al., 2002
	R	TGCTTAATCAGTGAGGCACC			
SHV	F	TTATCTCCCTGTTAGCCACC	<i>bla<sub>SHV</sub></i>	900pb	
	R	GATTTGCTGATTTGCTCGG			
	R	AAGCAGACTTGACCTGA			

### 5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Do total de 61 amostras de carcaças de frango coletadas, 34,0 % (21/61) foram positivas para a presença de *Salmonella* spp.. Em outras pesquisas realizadas no Brasil, e também em outros países, a partir de metodologia semelhante foi possível observar isolamento de *Salmonella* spp. em carne frango. Como Baptista et al (2018), 9,6% (16/60); Silva et al (2018), 25% (5/20); Abdel-Aziz (2016), 6,6% (5/75); Zhu et al (2014), 41,6% (663/1595). A prevalência de isolamento de *Salmonella* spp no presente trabalho, é considerada alta, quando comparada com os resultados dos trabalhos citados anteriormente.

A contaminação por *Salmonella* .spp. observada nas amostras de carne de frango analisadas pode ter sido decorrente de contaminação prévia no próprio abatedouro, em razão de falhas que podem ocorrer no processo de abate e processamento do produto (Lopes et. al, 2007; Von Rückert et al, 2009). O que pode ser sugerido, em razão de que foram observados em alguns locais casos de fraude, onde carcaças de frango originárias da indústria eram retiradas de suas embalagens originais e comercializadas como carne de frango *in natura*. Essa contaminação pode ainda ter ocorrido nos estabelecimentos de comercialização, em razão de condições higiênicas sanitárias inadequadas observadas nestes locais.

Durante a aquisição das amostras nos locais de comercialização, foram observadas falhas no processo de manipulação e das condições higiênicas sanitárias como um todo (BRASIL, 2004). Dentre os principais pontos observados, é dado destaque a temperatura de comercialização, uma vez que em 87% destes locais a carne de frango era comercializada sob temperatura ambiente (30 °C a 32 °C ). Temperatura propicia a multiplicação de *Salmonella* spp. Uma vez que estes microrganismos podem se multiplicar em temperaturas de 5 °C a 45 °C, com crescimento ótimo de 35 °C a 37°C (FRANCO & LANDGRAF, 2005; BHUNIA, 2008; MAHMOUD, 2012). Fato também relatado em trabalhos de Khan et al (2018) e Jarquin et al (2015). O que mostra mais uma vez a influência da temperatura na contaminação de carne de frango por *Salmonella* spp.



Além disto, em 58, 3% dos locais as mesas e bancadas não estavam devidamente higienizadas. Em relação aos manipuladores observados nos locais de comercialização, 100% não estavam com as unhas devidamente cortadas e limpas. E o mesmo colaborador que manipulava a carne de frango era o mesmo que atendia o caixa. Essas falhas nos processos de boas práticas de manipulação observadas nesses locais de comercialização podem contribuir para a contaminação e disseminação de *Salmonella spp.* neste produto, visto que essa transferência pode decorrer entre várias interações entre homem, alimento e o ambiente. Por esta razão, a contaminação cruzada é o pilar na disseminação de *Salmonella spp.*

Desta forma, por ser um dos mais importantes agentes relacionados com infecções causadas pelo consumo de alimentos contaminados, principalmente aqueles de origem avícola, é importante monitorar a prevalência de *Salmonella spp* nestes alimentos (SHARR, 2003).

## **Resistência antimicrobiana**

### **Perfil de susceptibilidade**

Em relação ao perfil de susceptibilidade a antimicrobianos, 47,61% (10/21), 42,85% (09/21), 4,76% (01/21), 14,28% (03/21), 23,80% (05/21), 47,61% (10/21) do total de amostras foram resistentes a ampicilina, cefotaxima, cloranfenicol, ciprofloxacina, e sulfametoxazol + trimetoprim, respectivamente. Estudos realizados por Ziech (2015) e Sereno et al (2017), corroboram com os resultados do presente estudo. Os autores observaram um total de 86% e 100% de isolados de *Salmonella spp.* resistentes a antimicrobianos, respectivamente. Estes dados confirmam que há uma intensa disseminação de *Salmonella spp.* resistentes a antimicrobianos em carne de frango. Em relação aos isolados considerados sensíveis a antimicrobianos, assim como de susceptibilidade intermediária, podem ser observados na tabela 2.

A partir dos resultados obtidos no teste de susceptibilidade frente a antimicrobianos, foi observado que 38% (08/21) das cepas de *Salmonella spp* isoladas foram resistentes a múltiplas drogas (MDR), ou seja, bactérias que são resistentes a no mínimo três classes de agentes antimicrobianos (MAGIORAKOS et al., 2012).

A ocorrência de cepas de *Salmonella spp* resistentes a múltiplos agentes antimicrobianos em carne de frango no Brasil é uma realidade crescente, fato relatado em diversos trabalhos, que corroboram com o presente estudo (ZIECH, 2015; SERENO et al, 2017 ; BAPTISTA et al, 2018). E que pode ser explicado em razão do intenso uso de antibióticos na produção animal, principalmente na produção avícola, onde os mesmos são utilizados tanto para fins terapêuticos quanto para a melhoria do desempenho.

A maior implicação quanto a disseminação de cepas de caráter zoonótico multidrogas resistentes, diz respeito à insucessos terapêuticos frente a diversas afecções, tanto em casos humanos quanto em animais. Além disso, tal

realidade leva a prejuízos nos plantéis animais, uma vez que quando presentes, estes agentes são de difícil eliminação. No caso da produção avícola, a permanência de agentes patogênicos é ainda mais preocupante, uma vez que a densidade animal é maior, e conseqüentemente, há uma maior disseminação um menor período de tempo.

Foi observado que alguns antimicrobianos tiveram maior poder de ação frente aos isolados, como o Cloranfenicol (4,28% (03/21)). Este resultado pode ser reflexo da proibição do uso deste agente como agente terapêutico e como promotor de crescimento na produção animal (BRASIL, 1998; LIMA et al, 2009).

Contudo, esta realidade não é a mesma para a Ceftriaxona, cefalosporina de 3ª geração. O uso desta droga é proibido na produção animal no Brasil, porém foi observada resistência em 42,85% (09/21). Assim, a ocorrência de cepas de *Salmonella* resistentes a Ceftriaxona isoladas de carcaças de frango no presente estudo indica a utilização indiscriminada desta droga, ou outras drogas da mesma classe de antimicrobianos, na produção avícola (RIBEIRO, 2018).

Quando relacionados os locais de comercialização com o perfil de resistências dos isolados (13, 15, 16, 17, 18). é possível observar que a maioria dos isolados que foram resistentes a três ou mais drogas são oriundas de um mesmo mercado público, o mercado público número 7. O que sugere mais uma vez que pode ter havido contaminação cruzada no local de comercialização, ou, estas carcaças de frangos tenham sofrido contaminação prévia ainda no abatedouro avícola.

**Tabela 2..** Perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos dos isolados de *Salmonella spp.*.

Isolado	AMP	AMC	CRO	CTX	CAZ	IPM	ATM	CLO	CIP	SUT
1	R	S	R	S	S	S	S	S	R	R
2	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S
3	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R
4	R	S	I	S	S	S	S	S	S	S
5	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S
6	S	S	I	S	S	S	S	S	R	S
7	S	S	I	S	S	S	S	S	I	S
8	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
9	S	S	I	S	S	S	S	S	I	S
10	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S
11	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S
12	R	S	R	S	S	S	S	S	I	R
13	R	S	R	S	S	S	S	S	I	R
14	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S
15	R	S	R	S	S	S	S	R	S	R
16	R	S	R	S	S	S	S	R	S	R
17	R	S	R	S	S	S	S	R	S	R
18	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R
19	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
20	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R
21	R	S	R	R	S	S	S	S	R	R

**Legenda:** AMP- Ampicilina; AMC- Amoxicilina + clavulanato; CRO- Ceftriaxona; CTX- Cefotaxima; CAZ- Ceftazidima; IPM Imipenem; ATM- Aztreonam; CLO- Cloranfenicol; CIP- Ciprofloxacina; SUT- Sulfametoxazol + Trimetoprim. S - Sensível; R- Resistente; I- Intermediário.

## **Testes fenotípicos para detecção de Beta-lactamases de espectro estendido (ESBL) e Carbapenemases**

Do total de isolados testados quanto a presença de ESBL por meio do teste de aproximação dos discos, foi observado uma distorção do halo (zona fantasma) ao redor do disco  $\beta$ -lactâmico em 33,33% (07/21), característica que indica a presença de cepas produtoras de ESBL. E os isolados negativos corresponderam a 66,67% (14/21). Os isolados positivos foram oriundos dos mercados públicos 7, 2, 8 e 1.

No teste de Hodge Modificado, para a detecção de enzimas carbapenemases, 100% (21/21) dos isolados foram negativos quanto a presença desta enzima. O que pode ser justificado em razão de agentes antimicrobianos carbapenêmicos não serem utilizados frequentemente na produção avícola.

## **Testes moleculares para a detecção de genes de resistência**

Foi observado a presença de genes de resistência que codificam  $\beta$ -lactamases (*bla*) e genes de resistência que codificam quinolonas (*qnr*) nos testes moleculares realizados no presente estudo, e são descritos na tabela 3. Estes resultados estão de acordo com os resultados obtidos nos testes fenotípicos de resistência também realizados. Uma vez que foram observados isolados resistentes principalmente a classe dos  $\beta$ -lactâmicos, como também a quinolonas e sulfanamidas.

Além disto, também foi observada a presença de cepas produtoras de ESBL. E Não foi observada a presença de genes que codificam carbapenemases, assim como no teste fenotípico (teste de Hodge modificado).

A presença de cepas resistentes aos  $\beta$ -lactâmicos, assim como de genes de resistência para os mesmos, são achados preocupantes. Uma vez que estes agentes antimicrobianos são utilizados para o tratamento de infecções causadas por diversos microrganismos, principalmente *Salmonella* spp. Assim, quando há resistência a estes antibióticos, ocorre falhas nos tratamentos, e como consequência sério problema de saúde pública (ALEKSHUN e LEVY, 2007; KIRBIS & KRIZMAN, 2015; GEBREYES et al, 2017).

**Tabela 3** Genes de resistência detectados em cada isolado obtidos no estudo.

Isolado	Resistência aos $\beta$ -Lactâmicos				Resistência as Quinolonas			
	<i>Bla</i> <sub>TEM-like</sub>	<i>Bla</i> <sub>SHV-like</sub>	<i>Bla</i> <sub>CTX-M-like</sub>	<i>Bla</i> <sub>KPC-2</sub>	<i>qnrA</i>	<i>qnrB</i>	<i>qnrC</i>	<i>qnrD</i>
1	+	-	-	-	+	+	-	-
2	+	-	-	-	+	+	-	-
3	+	-	-	-	+	+	-	+
4	+	-	-	-	+	+	-	-
5	+	-	-	-	+	+	-	+
6	+	-	-	-	+	+	-	+
7	+	-	-	-	+	+	-	+
8	+	-	-	-	+	+	-	+
9	+	-	-	-	+	+	-	+
10	+	-	+	-	-	+	-	-
11	+	-	-	-	-	+	-	-
12	+	-	+	-	-	+	-	-
13	+	-	+	-	-	+	-	-
14	+	-	+	-	-	+	-	-
15	+	-	+	-	-	+	-	-
16	+	-	+	-	-	+	-	+
17	-	-	+	-	-	+	-	+
18	+	-	+	-	-	+	-	+
19	+	-	-	-	-	+	-	+
20	+	-	-	-	-	+	-	+
21	+	-	-	-	+	+	-	+

A presença de tais genes de resistência detectados em isolados de *Salmonella* spp. de origem alimentar no presente estudo, alerta mais uma vez para a um problema de saúde pública. Uma vez que, a transmissão horizontal de genes de resistência ocorre principalmente por plasmídeos que codificam as  $\beta$ -lactamases (GYLES, 2008). Além dist, estes genes tem origem comunitária, e são comuns a ambientes hospitalares (SILVA & LICOPAN, 2012). Desta forma, a circulação dessas cepas resistentes a tais medicamentos pontua sobre o controle de *Salmonella* spp na carne de frango. (BORGES et al., 2019; MACIEL; MACHADO; AVANCINI, 2019; SIVASANKAR et al., 2020).

Desta forma, a emergência e disseminação de cepas de *Salmonella* multirresistentes aos antimicrobianos leva a sério impacto na saúde pública a nível mundial. E com isso há necessidade de uma maior atenção dos órgãos de saúde e vigilância, assim como os setores de produção de produtos de origem animal.

### Formação de biofilme

Quanto a capacidade de formação de biofilme pelo teste de aderência em microplacas, todos os isolados das 21 amostras positivas foram capazes de formar biofilme. Esse resultado corrobora com os resultados obtidos por

Oliveira et al (2014), Ziech et al (2015), Sereno et al (2017), Borges et al (2018), e Rodrigues et al (2019), onde 97%, 100%, 72.7%, 92.2% e 100% das cepas de *Salmonella* spp isoladas nos trabalhos acima citados também foram capazes de formar biofilme, respectivamente.

Quando classificados quanto ao grau de formação de biofilme, de acordo com Stepanovic´ et al (2007), foi observado que 100% (21/21) dos isolados de *Salmonella* spp testados foram consideradas como fraco formadores de biofilme. Número considerado elevado quando comparado com o estudo de Sereno et al (2017), onde apenas 59,1% dos isolados foram considerados fracos formadores de biofilme.

A presença de cepas de *Salmonella* spp formadoras de biofilme observadas no presente trabalho alerta para o risco a saúde que este achado pode trazer. A capacidade de formar biofilme faz com que as bactérias fiquem protegidas dentro do biofilme, e com isso fiquem menos susceptíveis a fatores externos, como a ação de agentes antimicrobianos.

Além disso, as células submetidas a situações de estresse, em taxa de crescimento e com disponibilidade de nutrientes escassa podem expressar fenótipos relacionados a mecanismos de resistência aos antimicrobianos (GILBERT et al., 2002). Ghigo (2001), cita que isto ocorre devido a troca de material genético entre as bactérias, especialmente genes que codificam a resistência a antimicrobianos, uma vez que nos biofilmes a multiplicação é menor, porém a taxa de conjugação é maior. Desta forma, a emergência de cepas de *Salmonella* spp. resistentes a antimicrobianos pode levar a insucesso nos tratamentos, e gerar grande impacto negativo na saúde pública.

A presença de biofilmes de *Salmonella* também acarreta prejuízos para as indústrias de alimentos. Quando presentes, estas estruturas causam corrosão de superfícies de equipamentos e materiais.

Além disto, facilitam a permanência de microrganismos patogênicos, que acarretam enfermidades aos consumidores, além de microrganismos deteriorantes que ocasionam a depreciação do produto final por alterações físico-químicas e sensoriais. (KASNOWSKI et al., 2010; BRIDIER et al., 2014; MARTIN, 2015; SINGH et al., 2017).

## **5.4 CONCLUSÃO**

A partir do presente estudo foi possível constatar a presença de *Salmonella* spp formadoras de biofilmes e resistentes a antimicrobianos, além da detecção de genes de resistência à classes de agentes antimicrobianos oriundas de carcaças de frango comercializadas em mercados públicos.

## **5.5 CONFLITO DE INTERESSE**

Os autores afirmam não haver conflito de interesse.

## 5.6 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela concessão da bolsa de mestrado.

## 5.7 REFERÊNCIAS

ALEKSHUN, M. N.; LEVY, S. B. Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. **Cell**, v. 128, n. 6, p. 1037-1050, 2007.

ANDERSON, K. F., LONSWAY, D.R., RASHEED, J.K., BIDDLE, J., JENSEN, B., MCDUGAL, L.K., CAREY, R. B., THOMPSON, A., STOCKER, S., LIMBAGP, B., PATEL, J. B., Evaluation of methods to identify the *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase in *Enterobacteriaceae*, **Journal of Clinical Microbiology**, vol. 45, p. 2723 – 2725, 2007.

BACCI, C.; BONI, E.; ALPIGIANI, I.; et al. International Journal of Food Microbiology Phenotypic and genotypic features of antibiotic resistance in *Salmonella enterica* isolated from chicken meat and chicken and quail carcasses. **International Journal of Food Microbiology**, v. 160, n. 1, p. 16–23, 2012.

BAPTISTA, D. Q; SANTOS, A. F. M; AQUINO, M. H. C; ABREU, D. L. C; RODRIGUES, D. P; NASCIMENTO, E. R; PEREIRA, V. L. A, Prevalência e susceptibilidade antimicrobiana de sorotipos de *Salmonella* spp. isolados de frangos vivos e carcaças no estado do Rio de Janeiro, **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v 38, n.7, p. 1278-1285, julho 2018. doi:10.1590/1678-5150-PVB-5289

BORGES, K. A; FURIAN, T. Q; SOUZA, S. N; MENEZES, R; TONDO, E. C; SALLES, C. T. P; MORAES, H. L. S; NASCIMENTO, V. P, Biofilm formation capacity of *Salmonella* serotypes at different temperature conditions, **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.38, n. 1, p, 71 – 76, janeiro 2018. doi: 10.1590/S0100-736X2018000100012

BORGES, K. A. et al. Detection and quantification of salmonella spp. In poultry slaughterhouses of southern brazil. **Journal of Infection in Developing Countries**, v. 13, n. 5, p. 455–460, 1 maio 2019.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. **Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água**. Diário Oficial da União de 18/09/2003.

BRASIL. Ministério da saúde. Diagnóstico laboratorial do gênero *Salmonella*, Manual Técnico de Diagnóstico Laboratorial da *Salmonella* spp., Séries A. **Normas e manuais técnicos**, Brasília – DF, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde, **Secretária de Vigilância em Saúde de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil**, junho de 2018, disponível em: <<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/julho/02/Apresentacao-Surtos->

DTA- Junho-2018.pdf>, acesso em: 07 de novembro de 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde, **Secretária de Vigilância em Saúde de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil**, Fevereiro de 2019, disponível em: < [http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/fevereiro/15/Apresenta o-Surtos-DTA---Fevereiro-2019.pdf](http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/fevereiro/15/Apresenta%20Surtos-DTA---Fevereiro-2019.pdf) >, acesso em: 13 de agosto de 2019.

BRATU, S., TOLANEY, P., KARUMUDI, U., QUALE, J., MOOTY, M., NICHANI, S., Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Brooklyn, NY: molecular epidemiology and in vitro activity of polymyxin B and other agents, **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, vol. 56, p. 128 – 132, 2005. doi:10.1093/jac/dki175

BRIDIER, A., SANCHEZ-VIZUETE, P., GUILBAUD, M., PIARD, J.-C., NAÏTALI, M., BRIANDET, R., Biofilm-associated persistence of food-borne pathogens, **Food Microbiology**, 2014. doi:10.1016/j.fm.2014.04.015.

CORTEZ, A.L. L; CARVALHO, A.C. F. B; KUNO, A. A; BURGER, K. P; VIDAL-MARTINS A. M. C, Resistência antimicrobiana de cepas de Salmonella sp. isoladas de abatedouros de aves, **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 73, n. 2, p. 157 – 163, 2006.

DAVEY, M. E., O'TOOLE, G. A, Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics, **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, vol. 64, p. 847–867, 2000.

DONLAN, R.M, Biofilms: microbial life on surfaces, **Emerging Infectious Diseases**, v.8, n.9, p.881–890, 2002.

DRUZIANI, J.T; SERENO, M. J; LAMPUGNANI, C; PEREIRA, J.G; BERSOT, L.S., **Prevalência de Salmonella em carcaças de frango na região Oeste do Estado do Paraná e perfil de resistência a antimicrobianos**. Resumos do 21o Evento da Iniciação científica; 6o Evento de Iniciação em Desenvolvimento Tecnológico e Inovação; 2013; Curitiba, Paraná. Brasil: Fundação Araucária, p.513, 2013.

EFSA, EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY, The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016, EFSA (European Food Safety Authority) e European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016, **EFSA Journal**, n. 15, v. 12, 228 pp, 2017.

FLEMMING, H-S, WINGENDER, J., SZEWZYK, U., STEINBERG, P., RICE, S.A., KJELLEBERG, S., Biofilms: an emergent form of bacterial life, **Nature Reviews, Microbiology**, vol. 14, setembro, 2016.

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.

GEBREYES, W. A; WITTUM, T; HABING, G; ALALI, W; USUI, M; SUZUKI, S; Spread of Antibiotic Resistance in Food Animal Production Systems, chapter 4, **Foodborne Diseases**, Third edition, p. 105 – 130, 2017. doi:10.1016/B978-0-12-385007-2.00004-8.



GILBERT, P.; ALLISON, D. G.; MCBAIN, A. J. Biofilms in vitro and in vivo: do singular mechanisms imply. **Journal of Applied Microbiology Symposium Supplement**, v. 92, p. 98–110, 2002.

GHIGO, J. M. Natural conjugative plasmids induce bacterial biofilm development. **Nature**, v. 412, n. 6845, p. 442–5, 2001.

GYLES, C. L. **Antimicrobial resistance in selected bacteria from poultry. Animal health research reviews / Conference of Research Workers in Animal Diseases**, 2008.

IST. Grupo de Ciências Biológicas do Instituto Superior Técnico. Universidade Técnica de Lisboa. **Crescimento microbiano em biofilmes**. Publicado em 2005, Revisto em 2008. Disponível em: <<http://escola.tecnico.ulisboa.pt/topico.asp?id=354&ordem=2>>. Acesso em: 17 de maio de 2019.

JARQUIN, C., ALVAREZ, D., MORALES, O., MORALES, A. J., LOPEZ, B., DONADO, P., VALENCIA, M. F., AREVALO, A., MUNOZ, F., WALSS, I., DOYLE, M. P., ALALI, W. Q., *Salmonella* on Raw Poultry in Retail Markets in Guatemala: Levels, Antibiotic Susceptibility, and Serovar Distribution, **Journal of Food Protection**, vol. 78, n. 9, p 1642–1650, 2015. doi:10.4315/0362-028X.JFP-15-117

KASNOWSKI, M. C.; MANTILLA, S. P. S.; OLIVEIRA, L. A. T.; FRANCO, R. M. Formação de biofilme na indústria de alimentos e métodos de validação de superfícies. **Revista Científica Eletrônica De Medicina Veterinária**. Ano VIII – Número 15 – 2010.

KHAN, S. A., GEORGES, K., RAHAMAN, S., ABDELA, W., ADESIYUN, A. A., Prevalence and serotypes of *Salmonella* spp. on chickens sold at retail outlets in Trinidad, **PLoS ONE**, vol. 13, n. 8, 2018. doi: 10.1371/journal.pone.0202108

KIRBIS, A; KRIZMAN, M; Spread of antibiotic resistant bacteria from food of animal origin to humans and vice versa, In: International 58th Meat Industry Conference “Meat Safety and Quality: Where it goes?”, **Procedia Food Science**, n. 5, p. 148 – 151, 2015.

LEZAMETA, L.; GONZALES, E.E.; TAMARIZ, J., Comparación de cuatro métodos fenotípicos para La detección de betalactamasa de espectro extendido. Perú. Rev Peru Med Exp Salud Pública, v. 27, p. 345-51, 2010.

LIMA, E. T; ANDREATTI FILHO, R. L; PINTO, J. P. A. N, Perfil de susceptibilidade antimicrobiana de sorotipo de *Salmonella* isolados de produtos avícolas. **Veterinária e Zootecnia**, v.16, n. 2, p. 394 – 400, 2009.

MACIEL, M. J.; MACHADO, G.; AVANCINI, C. A. M. Investigation of resistance of *Salmonella* spp. isolated from products and raw material of animal origin (swine and poultry) to antibiotics and disinfectants. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 20, 2019.

MAGIORAKOS, A. P. et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: An international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 18, n. 3, p. 268–281, 2012.

MARTIN, J. G. P. **Biofilmes de Staphylococcus aureus isolados de laticínios produtores de queijo Minas Frescal**. Tese – Universidade de São Paulo/Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. 2015

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.

MENKEM, Z. E; NGANGOM, B. L; TAMUNJOH, S. S. A; BOYOM, F. F; Antibiotic residues in food animals: Public health concern, **Acta Ecologica Sinica**, p. 1 – 5, 2018. doi: 10.1016/j.chnaes.2018.10.004.

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.

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

PENG, S. S; SALAHEEN, S; BISWAS, D, Animal Health: Global Antibiotic Issues, **Encyclopedia of Agriculture and Food Systems**, v. 1, p. 346 – 357, 2014. doi:10.1016/B978-0-444-52512-3.00187-X

RIBEIRO, L. P, **Salmonella Heidelberg isoladas de alimentos e pacientes humanos: susceptibilidade aos antimicrobianos**, [trabalho de conclusão de curso], Universidade Federal de Uberlândia, Faculdade de Medicina Veterinária, Uberlândia, 2018.

RODRIGUES, L. B. et al. Quantification of biofilm production on polystyrene by *Listeria*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* isolated from a poultry slaughterhouse. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.41, p1082-1085, 2010.

RODRIGUES, L. B; WEBBER, B; LEVANDOWSKI, R; GHLEN, S. S; SANTOS, L. R; PILOTTO, F; TONDO, E. C; DO NASCIMENTO, V. P, Biofilm Formation by *Salmonella* Enteritidis at Different Incubation Temperatures, **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 1654, n.47, 2019. doi: 10.22456/1679-9216.89414

SERENO, M. J; ZIECH, R. E; DRUZIANI, J. T; PEREIRA, J. G; BERSOT, L. S, Antimicrobial Susceptibility and Biofilm Production by *Salmonella* sp. Strains Isolated from Frozen Poultry Carcasses, **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.19, n.1, p. 103-108,2017. doi: /10.1590/1806-9061-2016-0268

SHARR, H. Controles de *Salmonella* na União Européia. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2003, Campinas. **Anais...** Campinas: FACTA, p.357-368, 2003.

SILVA, A. C; RAIZA, L; CÂNDIDO, T. J. S; RODRIGUES, M. X; SILVA, N. C. C; Resistência antimicrobiana de *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* e

*Escherichia Coli* isolados de carcaças de frangos: resistência a antibióticos e óleos essenciais, **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável (RBAS)**, v.8, n.1, p.95-103, Março, 2018.

SINGH, S; SINGH, S. K; CHOWDHURY, I; SINGH, R, Understanding the Mechanism of Bacterial Biofilms Resistance to Antimicrobial Agents, **The Open Microbiology Journal**, n. 11, p. 53 – 62, 2017.

SIVASANKAR, C. et al. Anti quorum sensing and anti virulence activity of tannic acid and it's potential to breach resistance in *Salmonella enterica* Typhi / Paratyphi A clinical isolates. **Microbial Pathogenesis**, v. 138, 1 jan. 2020.

STEPANOVIĆ, S., VUKOVIĆ, D., HOLA, V., DI BONAVENTURA, G., DJUKIĆ, S., CIRKOVIĆ, I., & RUZICKA, F. Quantification of biofilm in microtiter plates: Overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. **APMIS**, 115, 891–899, 2007.

WANG, H; YE, K; WEI, X; CAO, J; XU, X; ZHOU, G, Occurrence, antimicrobial resistance and biofilm formation of *Salmonella* isolates from a chicken slaughter plant in China, **Food Control**, v. 33, n. 1,2013.

ZIECH, R. E, **Caracterização de *Salmonella* sp. isolada de indústrias de aves baseada na formação de biofilmes, tolerância a sanitizantes e resistência a antimicrobianos**, [dissertação], Universidade Federal do Paraná, Palotina, 81 p, 2015.

ZHU, J., WANG, Y., SONG, X., CUI, S., XU, H., YANG, B., HUANG, J., LIU, G., CHEN, Q., ZHOUG, G., CHEN, Q., LI, F., Prevalence and quantification of *Salmonella* contamination in raw chicken carcasses at the retail in China, **Food Control**, n. 44, p. 198 – 202, 2014.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A confirmação de isolados de *Salmonella* spp. formadores de biofilme e multirresistentes a antimicrobianos, e a detecção de genes de resistência relacionados às classes de antimicrobianos, obtidos por meio da realização deste estudo demonstrou a importância de monitorar a presença de *Salmonella* spp., em carcaças de frango comercializadas em mercados públicos da cidade do Recife – PE, assim como a presença de genes de resistência, uma vez que estes genes são disseminados entre os microrganismos, assim como por todo o ambiente. Desta forma, a saúde dos consumidores, e também dos manipuladores está em risco, visto que estes mercados públicos são locais que recebem grande número de consumidores. Estes achados também servem de alerta aos órgãos competentes quanto ao monitoramento da forma de comercialização deste produto nestes locais, em virtude de terem sido observadas situações de fraude no momento da aquisição das amostras nestes locais. Portanto, é necessário que sejam realizadas ações educacionais preventivas com os consumidores e comerciantes sobre os riscos que práticas inadequadas de comercialização, manipulação, e preparo da carne de frango podem acarretar à saúde.