



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

DANIELA AGUIAR PENHA BRITO

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E PERFIL DE
RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE *Salmonella enterica*
ISOLADAS DA CADEIA PRODUTIVA DE FRANGOS DA
MESORREGIÃO NORTE DO ESTADO DO MARANHÃO**

Londrina
2016

DANIELA AGUIAR PENHA BRITO

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E PERFIL DE
RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE *Salmonella enterica*
ISOLADAS DA CADEIA PRODUTIVA DE FRANGOS DA
MESORREGIÃO NORTE DO ESTADO DO MARANHÃO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Ciência Animal da Universidade Estadual de
Londrina como requisito parcial para a obtenção do
título de Doutor.

Orientador: Alexandre Oba

Londrina
2016

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Brito, Daniela Aguiar Penha .

Aspectos epidemiológicos e perfil de resistência antimicrobiana de Salmonella enterica isoladas da cadeia produtiva de frangos da Mesorregião norte do estado do Maranhão / Daniela Aguiar Penha Brito. - Londrina, 2016.
120 f. : il.

Orientador: Alexandre Oba .

Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, 2016.
Inclui bibliografia.

1. Salmonela - Tese. 2. Frango de corte - Tese. 3. Carne de ave - Tese. 4. Microbiologia - Tese. I. Oba , Alexandre . II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. III. Título.

DANIELA AGUIAR PENHA BRITO

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E PERFIL DE RESISTÊNCIA
ANTIMICROBIANA DE *Salmonella enterica* ISOLADAS DA CADEIA
PRODUTIVA DE FRANGOS DA MESORREGIÃO NORTE DO
ESTADO DO MARANHÃO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina
como requisito parcial para a obtenção do título de
Doutor.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Oba
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. João Waine Pinheiro
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Profa. Dra. Roberta Lemos Freire
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Profa. Dra. Tereza Cristina R. Moreira de Oliveira
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Profa. Dra. Francisca Neide Costa
Universidade Estadual do Maranhão - UEMA

Londrina, 25 de maio de 2016.

Dedico a minha amada filha Ester

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por ter sido minha fonte inesgotável de sabedoria e força durante toda a minha caminhada de doutoranda.

Agradeço ao meu orientador, professor Alexandre Oba, por sua gentil orientação e parceria neste trabalho, por seus conselhos nos momentos de dificuldade, pelo acolhimento durante minha passagem pela Universidade Estadual de Londrina (UEL). Seu exemplo de profissionalismo e sua amizade será sempre uma inspiração para minha vida!

A meu esposo Danilo Brito e minha filha Ester, pelo apoio, sustentação e compreensão durante todo o período pós graduação. Suas vidas foram fundamentais para oferecer equilíbrio e direção nos momentos mais difíceis dessa caminhada.

A todos os professores que participam do Doutorado Inter-institucional Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina (UEL), pelos ensinamentos durante as disciplinas, pela troca de experiências e grande disponibilidade em contribuir nessa pesquisa, em especial, a professora Roberta Freire.

Aos colegas Janaína Rigão, Herisson e demais colegas e professores do Laboratório de Tecnologia de Carnes da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Londrina, pelo oportunidade de colaborar na execução as análises moleculares desta pesquisa. Um agradecimento especial a Dr. Fernanda Paião, pelos ensinamentos, pela paciência, pelo direcionamento da pesquisa e acima de tudo pela sua valiosa amizade.

Aos meus alunos e parceiros Gracielle Almeida, Cláudio D'Eça, Yara, Vanessa, Adriana, Jéssica, Aline dos Passos, Juliana Bogéa, Gilcimara, Sebastião, Raimundo, Geibson, Renan, Aline, Jaqueline, Adriana, Rosiane, José, Regiana e demais estagiários e bolsistas e técnica Leidiane do Laboratório de Microbiologia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão (IFMA), pela ajuda incansável na execução das análises e no “desbravamento” do local de estudo desse trabalho.

A colega Selma Camargo, pela sua colaboração como um elo fundamental para coleta das amostras. Seu profissionalismo e sua amizade foram valiosos!

Aos colegas de doutorado e de trabalho Kleydjany, Joyce, Fernanda, Sonália, Lucimeire, Esperança, Hailton, André, Graciliano e Arlan, pelos momentos de estudos, de socialização de idéias, de descontração e de ajuda durante esses anos.

A todos os outros que ajudaram indiretamente durante essa caminhada: a secretária Helenice, Patrícia (Patty), minha mãe Fátima, aos motoristas do IFMA e a empresa integradora de frangos de corte do Maranhão.

“Confie no SENHOR de todo o coração e não se apoie somente na sua própria inteligência. Lembre-se de Deus em tudo o que fizer, e ele lhe mostrará o caminho certo. Não fique pensando que você é sábio; tema o SENHOR e não faça nada que seja errado”

Provérbios 3.5-7 - Bíblia

BRITO, Daniela Aguiar Penha Brito. **Aspectos epidemiológicos e perfil de resistência antimicrobiana de *Salmonella enterica* isoladas da cadeia produtiva de frangos da Mesorregião Norte do Estado do Maranhão.** 2016. 120f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2016.

RESUMO

Objetivou-se investigar a presença de *Salmonella* spp e seus sorovares da cadeia produtiva de frangos de corte do Estado do Maranhão, assim como caracterizar o perfil fenotípico e genotípico de resistência antimicrobiana e identificar os fatores associados ao risco de contaminação do abate artesanal de aves. Foram coletadas 240 amostras do ambiente de criação (suabe de arrasto, propé, fezes e ração), 100 amostras de suabe cloacal e 180 amostras de carcaças, as quais foram analisadas quanto a presença de *Salmonella* spp. Os isolados foram sorotipificados, testados quanto a suscetibilidade antimicrobiana e detectados os genes codificadores de resistência. Realizou-se um estudo observacional transversal em 85 abatedouros artesanais de frangos de corte, onde avaliou-se os procedimentos de abate através de um inquérito epidemiológico e os dados foram associados a contaminação por *Salmonella* spp. nas carcaças comercializadas. Os resultados mostraram uma ocorrência da *Salmonella* spp. de 25,0% (15/60) em suabe de arrasto; 16,6% (10/60) de propé; 1,6% (1/60) em fezes cecais; ausência (0/60) em ração; 7% (7/100) de suabe cloacal e 48,8% (88/180) em carcaças de frango. Foram isolados 121 cepas de *Salmonella* spp. sendo identificados *Salmonella enterica* sorovar: Schwarzengrund (n=34), Albany (n=24), Enteritidis (n=9), Heidelberg (n=9), Panama (n=6); Kentucky (n=5), Muenchen (n=5), Hadar (n=3), Agona (n=3), Typhimurium (n=2), Derby (n=1), Orion (n=1), Anatum (n=1), Stenftenberg (n=1), Worthing (n=1), O:4,5 (n=9), O:6.8 (n=3), O:3,10 (n=2) e O:4,5:I,v:- (n=1). *Salmonella* ser. Schwarzengrund apresentou maior predominância no fluxo de produção das aves, sendo isolado em 05 amostras ambientais, 02 de aves vivas e 27 de carcaças. Constatou-se a resistência antimicrobiana em 98 (81%) amostras e destas, 73 (60,3%) apresentaram resistência múltipla a antimicrobianos (MDR). Os isolados apresentaram resistência para as sulfonamida (58,8%), trimetoprim (48,8%), tetraciclina (45,5%), ácido nalidíxico (44,6%), amoxicilina (26,4%), ampicilina (26,4%), cefazolina (22,3%), estreptomicina (21,5%), nitrofurantoína (2,5%), imipenem (1,6%), cloranfenicol (1,6%) e gentamicina (0,82%). Não foi encontrada resistência a norfloxacin, ciprofloxacina e fluorfenicol. *Salmonella* sorovares Schwarzengrund (n=25), Albany (n=17), Enteritidis (n=7) e Heidelberg (n=7) apresentaram maior frequência de fenótipos MDR. Em 50 isolados desses sorovares, foram detectados os genes de resistência *bla*CTX-M (n=11), *bla*CTX-M2 (n=6) e *bla*SHV (n=3), *sul1* (n=27), *sul2* (n=5), *tetA* (n=13), *tetB* (n=28), *tetC* (n=22), *tetE* (n=4), *dfrA12* (n=13) e *dfrA1* (n=7). Na avaliação de abatedouros artesanais de frango, verificou-se que 45 (52,9%) amostras estavam contaminadas por *Salmonella* spp., 83 (97,6%) por coliformes termotolerantes, com contagens variando de 10¹ a 10⁸ NMP/g e contaminação por bactérias mesófilas com contagens variando de 10² a 10⁸ UFC/g. A contaminação de *Salmonella* nas carcaças teve significativa associação ($p \leq 0,05$) com a presença de aves vivas na área de processamento, contaminação fecal visível durante a evisceração, resíduos de penas, resíduos de vísceras e contato entre carcaças durante o processamento. Os resultados encontrados indicam a necessidade de implementação do controle sanitário na cadeia produtiva de aves para as salmonelas paratíficas, especialmente nos abatedouros artesanais, com risco de veiculação da *Salmonella* spp. carreadoras de genes que codificam resistência múltipla a drogas através dos produtos comercializados.

Palavras-chave: Salmonelose. Antimicrobianos. Aves. Genes de resistência. Abatedouros.

BRITO, Daniela Aguiar Penha Brito. **Epidemiological aspects and antimicrobial resistance profile of *Salmonella enterica* isolated from poultry production chain of Northern Mesoregion Maranhão, Brazil.** 120p. 2016. Thesis (Doctor's Degree in Animal Science) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2016.

ABSTRACT

This study aimed to investigate the presence of *Salmonella* spp. and its serovars of the poultry productive chain of the State of Maranhão, characterize the phenotypic and genotypic profile of antimicrobial resistance and identify the factors associated with the risk of contamination in small-scale poultry slaughtering. We collected 240 creation of environmental samples (drag swab, boot swab, feces and feed), 100 cloacal swab samples and 180 samples of carcasses, which were analyzed for the presence of *Salmonella* spp. The isolates were serotyped, tested for antimicrobial susceptibility and genes encoding resistance detected. We conducted a cross-sectional observational study in 85 poultry slaughterhouse, where we evaluated the slaughtering procedures using an epidemiological survey and the data associated with *Salmonella* spp. contamination in carcasses. The results showed an occurrence of *Salmonella* 25.0% (15/60) in drag swabs, 16.6% (10/60) in boot swabs, 1.6% (1/60) in cecal feces, absence (0 / 60) in feed, 7% (7/100) of cloacal swabs and 48.8% (88/180) in chicken carcasses. There was isolated 121 strains of *Salmonella* spp. being identified *Salmonella enterica* serovar: Schwarzengrund (n = 34), Albany (n = 24), Enteritidis (n = 9), Heidelberg (n = 9), Panama (n = 6); Kentucky (n = 5), Muenchen (n = 5), Hadar (n = 3), Agona (n = 3), Typhimurium (n = 2), Derby (n = 1), Orion (n = 1), Anatum (n = 1), Stenftenberg (n = 1), Worthing (n = 1), O: 4.5 (n = 9), O: 6.8 (n = 3) O: 3.10 (n = 2) and O: 4.5: I v - (n = 1). *Salmonella* ser. Schwarzengrund presented higher prevalence in the poultry production flow, and isolated in 5 environmental samples, 2 live birds samples and 27 carcasses samples. It was found antimicrobial resistance in 98 (81%) isolates and of these, 73 (60.3%) had multiple antibiotic resistance (MDR). The isolates were resistant to sulfonamide (58.8%), trimethoprim (48.8%), tetracycline (45.5%), nalidixic acid (44.6%), amoxicillin (26.4%), ampicillin (26, 4%), streptomycin (21.5%), cefazolin (22.3%), nitrofurantoin (2.5%), imipenem (1.6%), chloramphenicol (1.6%) and gentamicin (0.82%). Resistance was not found norfloxacin, ciprofloxacin and flurofenicol. *Salmonella* serovars Schwarzengrund (n = 25), Albany (n = 17), Enteritidis (n=7) and Heidelberg (n=7) presented higher frequency of MDR. In 50 isolates, they were detected genes *bla*_{CTX M} (n=11), *bla*_{CTX-M2} (n = 6) and *bla*_{SHV} (n = 3), *sul1* (n=27), *sul2* (n=5), *tetA* (n = 13), *tetB* (n = 28), *tetC* (n = 22), *tetE* (n=4), *dfrA12* (n=13) and *dfrA1* (n=7). In evaluating small-scale poultry slaughterhouse, we found 45 (52.9%) samples were contaminated with *Salmonella* spp., 83 (97.6%) of coliforms, with counting range 101-108 NMP / g contamination by bacteria mesophilic with counts ranging from 102 to 108 UFC/g. The contamination of *Salmonella* in carcasses had significant association (p = 0.05) with the presence of live birds in the processing area, visible fecal contamination during evisceration, feather leftovers, offal leftovers and contact between carcasses during processing. The results indicate the need for implementation of sanitary control in the poultry production chain for paratyphoid salmonellas, especially in poultry slaughterhouses, and the risk of placement of *Salmonella* spp. presenting the genes encoding resistance to multiple drugs through market products.

Keywords: Salmonelose. Antimicrobial. Poultry. Resistance Gens. Slaughterhouses.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

ARTIGO A

- Figura 1** - Mapa com destaque a Mesorregião Norte do Estado do Maranhão, local de realização da pesquisa..... 41

ARTIGO C

- Figura 1** - Número de amostras positivas para *Salmonella* de acordo com o nível de contaminação por coliformes termotolerantes em carcaças provenientes de abatedouros artesanais do Estado do Maranhão, agosto/2013 a abril/2014..... 93

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 -	Classificação de alguns sorovares de <i>Salmonella enterica</i> conforme tipagem antigênica	17
Quadro 2 -	Ocorrência de <i>Salmonella enterica</i> em cama aviária de criações de frango do Brasil, por meio da coleta de material por suabe de arrasto.....	22
Quadro 3 -	Ocorrência da contaminação de <i>Salmonella enterica</i> e seus sorovares em carcaça de frango produzida em diferentes regiões brasileiras.....	25
Quadro 4 -	Aditivos proibidos e aprovados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para uso como promotores de crescimento em rações de animais.....	28

LISTA DE TABELAS

ARTIGO A

- Tabela 1 -** Ocorrência de *Salmonella spp.* na cadeia de produção de frangos de corte do Estado do Maranhão, 2013 a 2014..... 44
- Tabela 2 -** Distribuição de sorovares de *Salmonella spp.* conforme a ocorrência e as fontes de isolamento da cadeia de produção de frangos de corte do Estado do Maranhão, 2013 a 2014..... 8

ARTIGO B

- Tabela 1 -** Iniciadores utilizados na amplificação de fragmentos de DNA de genes que conferem resistência a diferentes antimicrobianos 63
- Tabela 2 -** Perfil de resistência antimicrobiana de sorovares de *Salmonella entérica* isolados da produção de frangos de corte no Estado do Maranhão, 2014 64
- Tabela 3 -** Distribuição conforme a resistência às classes de antimicrobianos de sorovares de *Salmonella entérica* de isoladas de diferentes fontes da cadeia de produção de frangos do Estado do Maranhão, 2014..... 65
- Tabela 4 -** Perfil de resistência fenotípica a antimicrobiana e genes de resistência em isolados de *Salmonella enterica* em diferentes fontes da cadeia produtiva de frango do Estado do Maranhão, 2014..... 67

ARTIGO C

- Tabela 1 -** Contaminação microbiológica de carcaças de frango dos abatedouros artesanais de frangos de mercados públicos do Estado do Maranhão, agosto/2013 a abril/2014..... 87
- Tabela 2 -** Variáveis do abate artesanal e sua associação estatística com a contaminação por *Salmonella* em carne de frango provenientes de 85 estabelecimentos de mercados públicos do Estado do Maranhão, agosto/2013 a abril/2014..... 89

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABPA	Associação Brasileira de Proteína Animal
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APC	Antibióticos Promotores de Crescimento
BPLS	Verde Brillhante Vermelho de Fenol Lactose Sacarose
CDC	Center for Disease Control and Prevention
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
EC	Escherichia coli
DHS	Diidropteroato sintetase
DHFR	Diidrofolato redutase
ESBL	Beta-lactamases de largo espectro
HE	Hecktoen
LIA	Ágar Lisina Ferro
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MS	Ministério da Saúde
LIA	Ágar Lisina Ferro
OIE	Organização Internacional de Saúde Animal
OMS/WHO	Organização Mundial da Saúde
PNSA	Programa Nacional de Sanidade Avícola
SIM	Motilidade, Indol e Sulfeto
SS	Salmonella Shigella
SGI-1	Ilha de Patogenicidade 1 de Salmonella
TSI	Tríplice Açucar Ferro
USDA	United States Department of Agricultura
XLD	Xilose lisina desoxicolato

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1	CARACTERIZAÇÃO DO GÊNERO <i>SALMONELLA</i>	17
2.2	<i>SALMONELLA SPP.</i> NA PRODUÇÃO DE FRANGOS DE CORTE	20
2.3	<i>SALMONELLA SPP.</i> EM CARNE DE FRANGO E RISCOS PARA SAÚDE PÚBLICA	23
2.4	RESISTÊNCIA DA <i>SALMONELLA SPP.</i> AOS ANTIMICROBIANOS	26
2.5	GENES ASSOCIADOS À RESISTÊNCIA EM <i>SALMONELLA</i>	28
2.5.1	Genes de Resistência aos Beta-Lactâmicos	29
2.5.2	Genes de Resistência aos Trimetoprim e as Sulfonamidas	30
2.5.3	Genes de resistência às tetraciclinas	31
2.5.1	Genes de Resistência às Quinolonas	32
2.6	O ABATE CLANDESTINO DE AVES	33
3	OBJETIVOS	37
3.1	OBJETIVO GERAL	37
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICO	37
4	ARTIGO A – FONTES DE SALMONELAS PARATÍFICAS NA CADEIA PRODUTIVA DE FRANGOS DE CORTE DA MESORREGIÃO NORTE DO ESTADO DO MARANHÃO, BRASIL	38
5	ARTIGO B – SOROVARES DE <i>Salmonella enterica</i> MULTIRRESISTENTES A ANTIMICROBIANOS ISOLADOS DA PRODUÇÃO DE FRANGOS DO ESTADO DO MARANHÃO	58

6	ARTIGO C – FATORES ASSOCIADOS À CONTAMINAÇÃO POR <i>Salmonella</i> spp. E COLIFORMES TERMOTOLERANTES EM CARÇAÇAS DE FRANGO DE ABATEDOUROS ARTESANAIS DA REGIÃO NORTE DO MARANHÃO	82
7	CONCLUSÃO	100
	REFERÊNCIAS	101
	APÊNDICES	113
	APÊNDICE A – Amplificação da PCR do gene <i>invA</i> e genes de resistência a sulfonamidas, tetraciclinas, trimetoprim e beta-lactâmicos	114
	APÊNDICE B – Fluxo de processamento do abate artesanal nos mercados públicos da Mesorregião Norte do Maranhão, 2014	117
	APÊNDICE C - Inquérito epidemiológico aplicado em abatedouros artesanais dos mercados públicos da Mesorregião Norte do Maranhão	118

1 INTRODUÇÃO

A cadeia produtiva de frangos de corte é uma das atividades mais organizadas e dinâmicas no setor agropecuário brasileiro, contribuindo significativamente para economia do país e exportações de produtos agroindustriais (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL - ABPA, 2012). Para garantir a produtividade anual e a competitividade, a avicultura de corte investe em programas de qualidade em toda cadeia, principalmente através do controle de enfermidades que possam comprometer à saúde das aves e dos consumidores (MENDONÇA, 2011).

As normas de biosseguridade empregadas na avicultura industrial dificultam, mas não impedem a presença de micro-organismos patogênicos nas criações e, conseqüentemente, nos produtos de origem avícola (SILVA; DUARTE, 2002). Dentre os patógenos veiculados por alimentos, as bactérias do gênero *Salmonella* destacam-se como as enterobactérias de maior importância, sendo responsáveis por significantes taxas de morbidade e mortalidade, envolvendo surtos em seres humanos causados pelo consumo de alimentos contaminados (ANDINO; HANNING, 2015). No Brasil, sua importância deve-se ao fato de ser o principal agente etiológico de doenças transmitidas por alimentos (BRASIL, 2015).

Salmonella spp. é capaz de infectar uma grande variedade de espécies de animais, porém as aves domésticas são consideradas o principal reservatório capaz de introduzi-la na cadeia alimentar do homem (CARDOSO; TESSARI, 2008). Os relatos de isolamento de *Salmonella* spp. são maiores na avicultura (OIE, 2010), relacionados principalmente com a alta densidade das criações e com as infecções subclínicas em frangos, o que permite a perpetuação da bactéria no ambiente de criação e nas aves até a idade de abate (ANDREATTI FILHO et al., 2009; VOLKOVA; BAILEY; WILLS, 2009).

Dentre os milhares de sorovares, *Salmonella enterica* sorovar Enteritidis e *S. enterica* sorovar Typhimurium são os principais responsáveis por salmoneloses em seres humanos associadas ao consumo de produtos de origem avícola (CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION - CDC, 2010; TESSARI et al., 2012). Apesar de esforços através de programas de monitoramento e biosseguridade, sorovares de importância para saúde pública ainda estão presentes em várias criações de frangos de corte no Brasil (ANDREATTI FILHO et al., 2009; BONI; CARRIJO; FASCINA, 2011; BORSOI, 2005; CARDOSO et al., 2013; RAVAGNANI et al., 2012).

Os locais de abate e a forma de comercialização de frangos abatidos podem influenciar na disseminação de *Salmonella* spp. e na contaminação do produto final. A ave infectada chega ao abatedouro e, por falhas nos procedimentos de abate, principalmente na evisceração e sucessiva manipulação, contamina a carcaça, especialmente sua superfície (JAY, 2005). As condições higiênicas dos locais de abate e a temperatura de conservação da carne são fatores determinantes para aumentar a carga de micro-organismos na carcaça, pondo em risco a saúde dos consumidores (LUNDGREN et al., 2009).

O uso abusivo de antimicrobianos na medicina humana, veterinária e na produção animal tem levado ao surgimento de *Salmonella* spp. resistentes a antimicrobianos, com aumento crescente de registros de isolamento de fenótipos com resistência múltipla a drogas (MDR) (AKBAR; ANAL, 2012; KOTTWIZ et al., 2012; MENDONÇA, 2011; VOSS REACH et al., 2014). A possibilidade de transferência de genes de resistência à microbiota residente no intestino aumenta a relevância desse assunto quando de se trata de agentes patogênicos como a *Salmonella* (DAHSHAN, 2010). O monitoramento constante com a identificação dos sorovares desse patógeno ao longo da cadeia de produção, assim como sua resistência antimicrobiana serve como subsídio às medidas de controle nas granjas e abatedouros, evitando a disseminação de patógenos resistentes na cadeia alimentar.

No estado do Maranhão, a avicultura de corte é uma atividade que contribui para a economia dos municípios e para a oferta de alimentos à população. De acordo com a Associação de Avicultores do Maranhão (AVIMA, 2012), a produção mensal de frangos por granjas de corte em sistemas de integração ou independente alcança 2 milhões de aves, com produção de mais de 4 milhões de quilos de carne de frango. A demanda por esse alimento no Maranhão é maior do que a capacidade de produção da cadeia produtiva de frangos no estado, o que tem permitido a importação de aves do Ceará, Tocantins e Piauí. A cadeia produtiva de frangos de corte dentro do Maranhão é diferenciada das demais quanto aos seus elos finais, pois processa-se sem a presença de abatedouros industriais no estado (Figura 1). Os entrepostos, locais que distribuem as aves em idade de abate, destina a maioria das aves para pequenos abatedouros localizados em mercados públicos de diversos municípios, onde realizam o abate de forma artesanal, sem inspeção sanitária e com condições de infraestrutura inapropriadas para essa atividade. Ademais, uma parcela da população ainda preserva o hábito cultural de consumir o frango recém- abatido, com escassez de informações sobre a qualidade higiênico sanitária desse produto.

Tendo em vista a importância da carne de frango e derivados na veiculação de *Salmonella* ao seres humanos, e que este patógeno tem sido registrado como um dos agentes que sofre pressão seletiva de antimicrobianos da produção, aumentando os casos de resistência antimicrobiana, tornou-se oportuno um estudo da disseminação desse agente ao longo das diversas etapas de produção, isto é, da granja ao abate, obtendo conhecimento importante sobre a epidemiologia da *Salmonella* e o risco de transmissão de doenças de origem alimentar a população maranhense.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CARACTERIZAÇÃO DO GÊNERO *Salmonella*

Salmonella consiste em uma bactéria anaeróbica facultativa, Gram negativa, não formadora de esporos, em forma de pequenos bacilos com tamanho geralmente entre 2 a 5 µm de comprimento por 0,5 a 1,5 µm de largura (GRIMONT; WEILL, 2007). O gênero pertence à família *Enterobacteriaceae* e existem duas espécies: *Salmonella enterica* e *Salmonella bongori*, sendo a primeira dividida em seis subespécies: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica* (BARROW; METHNER, 2013).

Conforme a classificação de Kaufmann-White, o gênero *Salmonella* apresenta variabilidade antigênica presentes na superfície da célula: os de natureza polissacarídica, denominada os antígenos somáticos (O) e antígenos capsulares (Vi); e de natureza proteica, os antígenos flagelar (H). A partir das diferenças em função de seu perfil antigênico, o gênero *Salmonella* possui subdivisões denominada sorovares (**Quadro 1**) (GRIMONT; WEILL, 2007). São descritos 2.610 sorovares para o gênero *Salmonella*, sendo *S. enterica* subsp. *enterica* a que apresenta o maior número de sorovares e detém os de maior importância para medicina humana e veterinária (AGBAJE et al., 2011).

Quadro 1 –Classificação de alguns sorovares de *Salmonella enterica* conforme tipagem antigênica.

Sorovar	Grupo	Antígeno	
		O	H
<i>Salmonella Pullorum</i>	D	1,9,12	-
<i>Salmonella Gallinarum</i>	D	1,9,12	-
<i>Salmonella Enteritidis</i>	D1	1,9,12	g,m:-
<i>Salmonella Typhimurium</i>	B	4,5,12	I: 1,2
<i>Salmonella Heidelberg</i>	B	1,4, [5], 12	r:1,2
<i>Salmonella Schwarzengrund</i>	B	1,4,12,27	d:1,7
<i>Salmonella Albany</i>	C	8,20	Z4, Z24

Fonte: Grimont e Weill (2007)

A *Salmonella* é amplamente difundida na natureza e capaz de infectar o trato gastrointestinal de seres humanos e de animais domésticos, podendo estar presente em aves, répteis e ocasionalmente em insetos (ANDINO; HANNIG, 2015). A *Salmonella enterica* subespécie *enterica* está adaptada em infectar animais vertebrados de sangue quente (aves e mamíferos), enquanto *Salmonella bongori* infecta principalmente vertebrados de sangue frio (SINGH, 2013).

De acordo com Grimont e Weil (2007) e com Center for Disease Control and Prevention – CDC (2013), a nomenclatura dos sorovares do gênero *Salmonella* devem ser descritos juntamente com a espécie e a subespécie, como por exemplo *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorovar Typhimurium ou *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium. Após a primeira descrição, as designações podem ser limitadas a *S. enterica* ser. Typhimurium ou *Salmonella* ser. Typhimurium. Não é aceita a abreviação do gênero sem a especificação da espécie, como visualizado em algumas referências presentes na literatura, por exemplo, *S. Typhimurium*.

Quanto às características de crescimento e perfil bioquímico, *Salmonella* spp. são mesófilas, com temperatura ótima de crescimento entre 35 a 37°C, não sobrevivem à temperatura de 60°C por 20 minutos; são fermentadoras de glicose com produção de ácido e gás, especialmente H₂S, e são normalmente móveis, exceto *Salmonella enterica* sorovar Gallinarum e *Salmonella enterica* sorovar Pullorum, que são incapazes de produzir gás e são imóveis; são urease e oxidase negativas; reduzem nitrato e nitrito (exceto algumas cepas de *S. enterica* sorovar Choleraesuis), reagem positivamente em vermelho de metila (exceto algumas cepas *Salmonella* ser. Pullorum) e apresentam lisina descarboxilase; crescem em pH entre 3,8 a 9,5 e com atividade de água mínima de 0,94 (FRANCO; LANDGRAF, 2008; SILVA et al., 2010).

Os diferentes sorovares de *Salmonella* podem infectar e sobreviver em um ou mais hospedeiros e essa habilidade está relacionada às características fisiológicas e imunológicas do animal hospedeiro, da presença de organismos comensais e das próprias características genéticas do patógeno (FOLEY et al., 2013). De acordo com sua especificidade, os sorovares de *Salmonella enterica* podem ser classificados em três grupos. O primeiro grupo inclui sorovares irrestritos, capazes de infectar uma grande variedade de hospedeiros. Os sorovares *Salmonella* ser. Typhimurium e *Salmonella enterica* sorovar Enteritidis são exemplos clássicos de sorovares desse grupo, apresentando relevante importância para saúde animal e saúde pública, pois afetam aves, suínos, equinos, roedores,

humanos, ovinos e bovinos (BERCHIERI JUNIOR et al., 2009). Eles causam doenças entéricas leves ou podem persistir dentro do hospedeiro, sem quaisquer sintomas clínicos graves, apesar de poderem causar doença grave em hospedeiros jovens (BÄUMLER et al., 1998).

O segundo grupo inclui sorovares de *Salmonella* adaptados a um tipo hospedeiro específico, causando infecção sistêmica grave e podendo acidentalmente infectar outros hospedeiros, que funcionam como portadores. *Salmonella* ser. Choleraesuis enquadra-se nesse grupo, causando infecção em suínos, podendo infectar outros hospedeiros portadores como roedores e seres humanos (OIE, 2010; SINGH, 2013).

O terceiro grupo é composto por sorovares com hospedeiro restrito, de forma que acometem somente um hospedeiro específico. *Salmonella* ser. Gallinarum e *Salmonella* ser. Pullorum pertencem a esse grupo, infectando exclusivamente as aves. Eles exclusivamente causam infecção sistêmica, podendo ser fatal para seu hospedeiro e apresentam tropismo por órgãos linfáticos (BERCHIERI JUNIOR et al., 2009; SNOEYENBOS; WILLIAMS, 1991).

A maioria dos sorovares de *Salmonella* spp. é hospedeiro não específico e pode causar doenças de origem alimentar para os seres humanos, adquiridas através da ingestão de alimentos e água contaminados (FREITAS NETO et al., 2010). Dois grupos de doenças podem ser desencadeadas pelo gênero *Salmonella*: o grupo da febre tifoide e das febres entéricas, causadas por *Salmonella enterica* sorovar Typhi e *Salmonella enterica* sorovar Paratyphi, respectivamente, e o grupo das salmonelas não tifoides ou salmoneloses, causadas pelos demais sorovares. Esta última apresenta infecções geralmente autolimitadas, com dores abdominais, náuseas, vômitos, diarreia, com intensa desidratação. Casos de infecções extraintestinais, como meningite e septicemias, podem acontecer em grupos mais sensíveis da população como crianças pequenas, idosos e imunocomprometidos, necessitando de tratamento com uso de antimicrobianos (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2010; SHINOHARA et al., 2008; TESSARI et al., 2012).

2.2 *Salmonella* spp. NA PRODUÇÃO DE FRANGOS DE CORTE

A salmonelose aviária é um dos problemas sanitários de maior relevância para a avicultura industrial do mundo. Refere-se ao grupo de doenças agudas ou crônicas causadas por um ou mais membros do gênero *Salmonella* que acometem as aves, existindo três formas de manifestação: a pulorose, causada pela *Salmonella* ser. Pullorum, o tifo aviário,

causado pela *Salmonella* ser. Gallinarum, e o paratifo aviário, causado pelos demais sorovares de *S. enterica* (SNOEYENBOS; WILLIAMS, 1991).

A Pulorose e o Tifo aviário são doenças septicêmicas que acometem as galinhas, perus, faisões, codornas, patos e pavões. A Pulorose, conhecida como diarreia branca, apresenta-se predominantemente em aves jovens, provocando inapetência, depressão, diarreia branca caseosa e morte em poucos dias. O Tifo Aviário acomete aves adultas, causando inicialmente diarreia de coloração amarelo esverdeada, seguido de aumento da taxa de mortalidade, diminuição do consumo alimentar e queda na produção de ovos (ANDINO; HANNING, 2015; BERCHIERI JUNIOR et al, 2009).

Por conta dos elevados prejuízos econômicos, a Pulorose e o Tifo Aviário foram intensamente combatidos na avicultura industrial nas últimas décadas, através de programas sanitários rigorosos e vacinações, sendo que atualmente são enfermidades erradicadas na maioria das indústrias avícolas mundiais, especialmente em países como nos Estados Unidos, Canadá e leste europeu (SINGH, 2013; SILVA; DUARTE, 2002). No Brasil, a Pulorose e o Tifo Aviário são monitorados desde 2003 pelo Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA) do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), em que a certificação e controle de núcleos de estabelecimentos avícolas livres de *Salmonella* ser. Gallinarum e *Salmonella* ser. Pullorum são obrigatórios (BRASIL, 2003a).

O paratifo aviário representa a salmonelose aviária de maior risco para a avicultura atual e apresenta importância para saúde pública (CARDOSO et al., 2013). Nas aves, a doença caracteriza-se por provocar um quadro entérico ou sistêmico em aves jovens ou adultas, mas na maioria dos casos, causam infecções subclínicas, possibilitando a permanência da bactéria no trato digestório dos frangos até o abate (ANDINO; HANNIG, 2015). O estado de portador é o fator epidemiológico mais relevante do paratifo, o que converte as aves em uma fonte contínua de contaminação para o meio ambiente e para os produtos de origem animal, favorecendo a introdução das salmonelas na cadeia alimentar (CARDOSO; TESSARI, 2008).

De modo geral, a principal forma de transmissão das salmoneloses aviárias é através da ingestão de água e/ou ração contaminados, assim como ingestão de material fecal (BACK, 2010). *Salmonella* ser. Enteritidis, *Salmonella* ser. Typhimurium e *Salmonella enterica* sorovar Heidelberg são invasivas e podem ser transmitidas por via vertical, na qual a bactéria atinge os folículos ovarianos e oviduto, infectando os ovos ou contamina a casca dos ovos por meio das fezes no momento que passa pela cloaca (GAST; GUARD-BOULDIN; HOLT, 2004; HERMANN, 2012). Em razão da microbiota intestinal não desenvolvida e ao

baixo desafio imposto pelo sistema industrial de criação atual, as aves jovens são consideradas mais suscetíveis à colonização da *Salmonella* no trato gastrointestinal durante os primeiros dias, por transmissão vertical ou por transmissão horizontal nos incubatórios durante o manuseio e transporte (FOLEY et al., 2011; REVOLLEDO; FERREIRA; MEAD, 2006).

Namata et al (2009), analisando os fatores de risco para prevalência e persistência de *Salmonella* em lotes de frangos de corte na Bélgica, demonstraram que os pintos de um dia infectados com *Salmonella* representaram o primeiro grande fator de risco no controle das salmoneloses nos plantéis avícolas. No Brasil, Moraes et al. (2014) coletaram amostras de fígado, coração, saco de gema, mecônio de pintos com um dia de vida, antes do alojamento, de 32 lotes de frangos de corte da região de Goiás e constataram a frequência de 6,2%, 4,7%, 3,1% e 4,7%, respectivamente, de *Salmonella* spp. nas amostras, indicando a ocorrência de transmissão via ovo, provavelmente por matrizes ou ovos infectados no incubatório. Conforme os autores, os incubatórios comerciais podem ser ambientes de potencial contaminação e disseminação de enteropatógenos como *Salmonella*.

A contaminação da ração e suas matérias-primas é apontada como um importante veículo de salmonelas paratíficas para plantéis de frangos de corte. Os alimentos contaminados pela bactéria têm sido a fonte comum de introdução de novas cepas de *Salmonella* na cadeia de produção animal, visto que a ração de aves contém ingredientes de origem mista e pode conter uma variedade de cepas de salmonelas “exóticas” (OIE, 2010). As rações e suas matérias primas, principalmente de origem animal, são referenciadas como produtos que apresentam quase sempre altas taxas de contaminação por *Salmonella* spp. responsável pelo paratifo aviário (BARROW; METHNER, 2013; HOFER; SILVA FILHO; REIS, 1998; SILVA; DUARTE, 2002).

As infecções paratíficas são de difícil controle no sistema de integração de aves, pois envolve uma epidemiologia complexa com várias fontes de contaminação ambiental (CARDOSO; TESSARI, 2008). Dentre as diferentes fontes, a cama aviária pode ser um importante reservatório de *Salmonella* spp. para aves do mesmo ou diferentes lotes, visto que sua reutilização é uma prática comumente adotada (BONI; CARRIJO; FASCINA, 2011; VIEIRA, 2011). O *status* microbiológico da cama aviária, através do suabe de arrasto, serve como um instrumento de monitoramento epidemiológico de *Salmonella* spp. em criações de aves (ANDREATTI et al., 2009; BRASIL, 2013). De acordo com pesquisas realizadas em aviários brasileiros, localizados em diferentes unidades federativas, a taxa de isolamento de *Salmonella* em cama aviária varia de 0 até 21,2% (**Quadro 2**). Esses estudos apontam

Salmonella ser. Enteritidis como o mais prevalente em isolamentos de criações de frangos de corte brasileiras nos últimos dez anos. Porém, outros sorovares de *S. enterica* como Senftenberg, Mbandaka, Havana e Heidelberg apresentam igual ou maior ocorrência em algumas regiões.

Quadro 2 – Ocorrência de *Salmonella enterica* em cama aviária de criações de frango do Brasil, por meio da coleta de material por suabe de arrasto.

Ano de publicação	Número de amostras	Ocorrência	Principais sorovares de <i>S. enterica</i> identificados	Autores (Estado)
2005	101	15,8%	Enteritidis, Agona Tennesse, Ohio	Borsoi (Rio Grande do Sul)
2009	806	2,7%	Give, Enteritidis	Andreatti et al. (São Paulo)
2011	134	3,75%	Typhimurium, Senftenberg, Enteritidis	Boni; Carrijo; Fascina (Mato Grosso)
2012	20	0	Não encontrado	Ravagnani et al. (Paraná)
2013	976	21,2%	Enteritidis, Worthington Senftenberg	Cardoso et al. (São Paulo e Goiás)
2014	96	9,4%	Enteritidis, Havana Mbandaka	Moraes et al. (Goiás)
2015	342	11,4%	Heidelberg, Mbandaka Newport, Schwarzengrund	Pandini et al. (Paraná)

Após o controle e declínio da *Salmonella* ser. Gallinarum e *Salmonella* ser. Pullorum nas criações de frango, *Salmonella* ser. Enteritidis é registrado como o mais predominante em infecções paratífoides nos Estados Unidos e no Brasil (ANDINO; HANNING, 2015; SILVA; DUARTE, 2002). No entanto, percebe-se que, recentemente, está ocorrendo mudanças na prevalência de sorovares de *Salmonella* em aves comerciais e em ambientes de criação, por conta de programas voluntários de erradicação da *Salmonella* e uso de vacina contra *Salmonella* ser. Enteritidis (FOLEY et al., 2011). Em um estudo temporal sobre os sorovares de *Salmonella enterica* presentes em propriedades avícolas pertencentes aos principais estados produtores de carne de frango (Paraná, Santa Catarina, Mato Grosso do Sul), Voss-Rech et al. (2015) isolaram 82 cepas de *Salmonella* spp. de 1.543 amostras de

suabe de arrasto nos anos 2009 e 2010 e verificaram que os sorovares de *S. enterica* mais comuns foram Minnesota, Infantis, Heidelberg, Senftenberg e Mbandaka.

Os estudos epidemiológicos sobre a contaminação de *Salmonella* em criações de frangos mostram que os principais fatores de riscos associados a ocorrência do agente incluem infecções de pintainhos, contaminação da ração e da água, baixo nível de higiene das instalações, infecção por *Salmonella* em lotes anteriores, destino impróprio de cadáveres e falhas no programa de limpeza e desinfecção de equipamentos avícolas (BOUQUIN et al., 2010; CARDINALE et al., 2004; ROSE et al., 2000). Portanto, devido a inúmeras fontes de contaminação somado ao grande número de sorovares, as medidas de controle das salmoneloses paratíficas devem ser amplas e inespecíficas (TESSARI et al., 2012).

Revolledo (2008) reforça que antes de se estabelecer um manejo específico contra a *Salmonella* na produção avícola, deve-se conhecer a ocorrência da bactéria dentro da granja ou lote e posteriormente estabelecer as medidas de controle. Estas devem estabelecer-se em todos os grupos de criação e devem incluir necessariamente boas práticas de manejo (BPM) e boas práticas de higiene (BPH). Adicionalmente, a utilização de um ou mais produtos que reduzem ou impedem a colonização intestinal da *Salmonella* (produtos de exclusão competitiva, prebióticos, probióticos, ácidos orgânicos, antimicrobianos e vacinas) ainda são considerados imprescindíveis na criação comercial para atender as exigências no comércio internacional de aves e produtos avícolas (ARAÚJO et al., 2007; McCARTNEY, 2008; OIE, 2010).

2.3 *Salmonella* spp EM CARNE DE FRANGO E RISCOS PARA A SAÚDE PÚBLICA

O setor avícola brasileiro é considerado o mais dinâmico no complexo industrial de carnes, apresentando o maior crescimento no volume de produção, mantendo o país como o 2º maior produtor e 1º maior exportador mundial por anos (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL - ABPA, 2015; OLIVEIRA, 2011). Apesar dos avanços tecnológicos e de investimento em programas de qualidade, a indústria avícola ainda não assegura a eliminação completa de *Salmonella* spp. na carne de frango. Na indústria avícola, a presença da *Salmonella* spp. nas carcaças de frango ocorre por meio de uma contaminação inicial oriunda das próprias aves, a partir dos intestinos, pele e penas. As operações de abate e sucessiva manipulação pode resultar na contaminação da carne e seus subprodutos (VON RÜCKERT et al., 2009). As condições higiênicas dos abatedouros, as técnicas de abate aplicadas e o tempo de exposição da carne à temperatura ambiente durante a

comercialização são fatores determinantes para aumentar a carga de micro-organismos sob a carcaça (CARDINALE et al., 2004; LUNDGREN et al., 2009).

Cardoso e Tessari (2008) ressaltam que um pequeno número de animais infectados por *Salmonella* spp. que chegam ao abatedouro pode provocar a contaminação de toda linha de abate em locais onde as carcaças não são processadas corretamente. Em estudos epidemiológicos de incidência e os fatores de risco da *Salmonella* em abatedouros de aves do Canadá (ARSENAULT et al., 2007) e da França (HUE et al., 2011), mostraram que a presença de *Salmonella* no intestino dos frangos é o principal fator associado a presença da bactéria nas carcaças. Portanto, quanto maior a prevalência nas aves vivas, espera-se maior a contaminação nas carcaças abatidas.

Levantamentos realizados no Brasil têm mostrado diferenças na prevalência e na distribuição de sorovares de *Salmonella* em carcaças de frango oriundas de distintas regiões brasileiras (**Quadro 3**). Apesar da grande variabilidade de sorovares por área geográfica, *Salmonella* ser. Enteritidis permanece como o mais prevalente em carne de frango, nos últimos 10 anos no país. Desde 2000, em virtude da complexidade dos processos de controle de *Salmonella* spp. na produção da carne de frango, a legislação brasileira não inclui a *Salmonella* como padrão microbiológico de qualidade em carcaça de frango comercializada no país. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) considera que “a presença desse patógeno nas carcaças de frango existe de forma crítica e é um problema mundial, não existindo medidas efetivas de controle que possam eliminá-la da carne crua”, ficando na responsabilidade do consumidor adotar as boas práticas de manipulação, conservação e preparo do alimento (BRASIL, 2000)

Mendonça (2011) destaca que apesar de existir inúmeros dados publicados que mostram uma relevante ocorrência de *Salmonella* na produção primária e no produto final no Brasil, esses dados ainda subestimam a real incidência da bactéria na cadeia produtiva, visto que as empresas integradoras não divulgam informações à comunidade científica e nem tornam seus dados públicos, pelo temor a publicidade negativa e consequente perda financeira.

Em 2003, implantou-se no Brasil o Programa de Redução de Patógenos (PRP) do MAPA, no qual implementa a análise laboratorial sistemática e contínua de carcaças de frangos e perus de abatedouros sob serviço de inspeção federal, estabelecendo um sistema de informação para avaliar a contaminação dos produtos por *Salmonella* spp. e assim, permitir uma melhor eficiência das medidas de controle (BRASIL, 2003b). Dessa forma, a cada 51

carcaças de frango analisadas nos abatedouros para pesquisa de *Salmonella* spp., aceita-se 12 carcaças positivas ou 20% de positividade.

Quadro 3 – Ocorrência da contaminação por *Salmonella enterica* e seus sorovares em carcaças de frango produzidas em diferentes regiões brasileiras.

Ano (Autor)	Estado (Sigla)	Ocorrência n (%)	Principais sorovares de <i>S. enterica</i>
2006 (Oliveira et al.)	Ceará (CE)	63 (11,8%)	Enteritidis Panama Newport
2007 (Ribeiro)	Rio Grande do Sul (RS)	61 (39,3%)	Enteritidis Hadar Typhimurium
2008 (Moreira et al.)	Goiás (GO)	363 (14,32%)	Albany Enteritidis Tennessee
2008 (Tessari et al.)	São Paulo (SP)	116 (2,5%)	Enteritidis
2009 (Duarte et al.)	Pernambuco (PE)	260 (9,6%)	Enteritidis Typhimurium Saintpaul
2010 (Brito et al.)	Maranhão (MA)	40 (12,5%)	Albany
2011 (Boni; Carrijo; Fascina)	Mato Grosso (MT)	63 (26,9%)	Schwarzengrund Enteritidis Typhimurium
2015 (Cardoso et al.)	São Paulo (SP)	609 (14,6%)	Enteritidis Albany Infantis
2015 (Panzenhagen et al.)	Rio de Janeiro (RJ)	60 (6,67%)	Typhimurium Albany
2015 (Minharro et al.)	Tocantins (TO)	300 (8,33%)	Enteritidis Mbandaka

A salmonelose em seres humanos é responsável por altas taxas de morbidade e mortalidade no mundo, com relatos de crescente aumento de surtos de infecção de origem alimentar (ANDINO; HANNING, 2015). As aves representam o mais importante reservatório capaz de introduzir a bactéria na cadeia alimentar do homem, visto que os ovos, a carne de frango e seus derivados são os principais alimentos envolvidos em surtos de salmonelose humana (CARDOSO; TESSARI, 2008).

Nos Estados Unidos, o custo associado com a doença em 2013 foi estimado em mais de três bilhões de dólares para 1 milhão de casos (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURA - USDA, 2014). Entre 2006 a 2011, mais de 70% das salmoneloses humanas nesse país foram atribuídas ao consumo de carne de frango, de patos ou de ovos. *Salmonella* ser. Enteritidis foi o mais frequentemente isolado nesse período, seguido de *Salmonella enterica* sorovares Typhimurium, Newport, Heidelberg e Montevideo (CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2013). Em 2013, na Inglaterra, foram notificados 7.585 casos de salmonelose humana, sendo que 2.090 casos foram por *Salmonella* ser. Enteritidis (PUBLIC HEALTH ENGLAND - PHE, 2014).

No Brasil, os casos de salmonelose humana são subnotificados, o que impede estimar o impacto da doença na saúde pública. Porém, de acordo com Ministério da Saúde entre de 2000 e 2014, ocorreram 1.948.144 surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA), nos quais *Salmonella* (18,09%) foi o principal agente etiológico associado aos casos identificados. Os ovos, a água, sobremesas, carne bovina, leite e carne de aves foram os principais alimentos envolvidos nos surtos de DTA no país (BRASIL, 2015).

2.4 RESISTÊNCIA DA *Salmonella* ssp. AOS ANTIMICROBIANOS

Os antimicrobianos são rotineiramente utilizados em infecções causadas por uma grande variedade de patógenos bacterianos. Porém, o uso intensivo desses produtos tem selecionado micro-organismos resistentes, elevando as taxas de morbidade e mortalidade e aumentando dos custos de tratamento de infecções graves (LIN et al., 2015; WHO, 2002).

A resistência aos antimicrobianos é um tema intensamente discutido pelas instituições internacionais de saúde, pois trata-se de um sério problema de saúde pública que envolve diferentes áreas, tais como medicina humana, medicina veterinária e produção de alimentos (WHO, 2012). A pressão seletiva em bactérias resistentes é exercida não somente pelo uso abusivo de antimicrobianos no tratamento de infecções humanas, mas também no uso desses agentes em medidas preventivas e profiláticas da medicina veterinária e na produção animal através dos antimicrobianos como promotores de crescimento - APC (HUR; JAWALE; LEE, 2012; MOTA et al., 2005).

Recentemente, os produtos de origem animal têm recebido atenção como uma importante via de transmissão de patógenos com resistência antimicrobiana vinda dos animais para os seres humanos (MARSHALL; LEVY, 2011). Na avicultura, o uso de APC é uma medida amplamente adotada, com a finalidade de equilibrar bactérias benéficas no trato

intestinal dos animais e melhorar o desempenho das aves (GONZALES; MELO; CAFÉ, 2012; REVOLEDO, 2008). A possível transferência de bactérias com resistência antimicrobiana de aves para o homem, através dos alimentos, tem mobilizado esforços por parte de várias instituições internacionais, como Organização Mundial da Saúde (OMS/WHO), Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) e *Codex Alimentarius*, o que já levou ao banimento de antimicrobianos na alimentação de animais na União Européia e ainda causa discussões sobre o assunto em países com alta produção intensiva de aves (BRASIL, 2012; McCARTEY, 2008).

Por se tratar de uma bactéria com risco zoonótico, o perfil de resistência antimicrobiana da *Salmonella* tem sido bastante estudada. Esse gênero tem sofrido pressão seletiva a várias classes de antimicrobianos, levando a emergência de *Salmonella* com fenótipos de resistência múltipla a drogas (MDR), ou seja, com resistência a duas ou mais classes de antimicrobianos simultaneamente (GLENN et al., 2013). Tem sido registrado no Brasil e em outros países fenótipos MDR em *S. enterica* dos sorovares Enteritidis, Typhimurium, Heidelberg, Infantis, Senftenberg e Schwarzengrund isolados da cadeia produtiva de aves (BIFFI et al., 2014; CORTEZ et al., 2006; LU et al., 2014; MEDEIROS et al., 2011; MENDONÇA, 2011; VOSS-RECH et al., 2015).

No Brasil, os princípios ativos como ácido nalidíxico, tetraciclina, sulfonamidas, estreptomicina, ampicilina e ceftiofur são comumente apontados como os antimicrobianos com os maiores índices de resistência antimicrobiana no gênero *Salmonella* em aves, em fontes ambientais de criação de frangos e em alimentos de origem avícola (MATIELLO et al., 2015; MORAES et al., 2014; PANDINI et al., 2015; VOSS-RECH et al., 2015). Por muitos anos, alguns desses antimicrobianos eram utilizados como promotores de crescimento em frangos, porém, desde de 1992, o MAPA vem proibindo vários princípios ativos de antimicrobianos com a finalidade de minimizar a resistência cruzada de patógenos animais e de humanos e adequar-se às exigências dos países importadores da carne de frango (Quadro 4).

A OIE elaborou uma lista de antimicrobianos de importância veterinária, fazendo recomendações sobre a restrição do uso em animais produtores de alimentos de classes antimicrobianas que são extremamente importantes para a saúde humana. Estes incluem as fluoroquinolonas e cefalosporinas de terceira e quarta geração, atualmente, fundamentais para o tratamento de infecções graves por *Salmonella* (OIE, 2015).

Quadro 4: Aditivos proibidos e autorizados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para uso como promotores de crescimento em rações de animais

Aditivos proibidos ou suspenso		Aditivos autorizados	
Nomes	Legislação	Nome	Legislação
Clortetraciclina	Portaria 159/ 1992	Avilamicina	IN 13/2004
Oxitetraciclina		Sulfato de colistina	
Penicilina		Flavomicina	
Sulfonamidas		Lincomicina	
Clorafenicol	Portaria 259/ 1992	Tilosina	
Furazolidona	Portaria 448/ 1998	Bacitracina de zinco	
Nitrofurazona		Bacitracina metileno disalicilato	
Avoparcina	Of. Circular 047/98	Halquinol	
Arsenicais e antimoniais	Portaria 31/ 2002	Cloridrato de clorexidina	
Olaquinox	IN 11/ 2004	Espiramicina	
Carbadox	IN 35/ 2005	Virginamicina	
Violeta Genciana	IN 34/ 2007	Eramicina	

Fonte: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil (MAPA)

2.5 GENES ASSOCIADOS À RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA EM *Salmonella*

A resistência antimicrobiana é a habilidade do micro-organismo de interromper a ação do antimicrobiano, resultando em ineficiência do tratamento, infecções persistentes e ainda a possibilidade de transferência dessa característica a outros micro-organismos (WHO, 2012). Os mecanismos de ação da resistência antimicrobiana podem ser por meio: da produção de enzimas capazes de destruir e/ou inativar o antibiótico; da alteração do sítio alvo do antimicrobiano, impedindo sua ação; do bloqueio do acesso do antibiótico ao sítio alvo da bactéria; ou do efluxo rápido, que bombeia a droga para fora da célula antes que possa se tornar efetiva (HUR; JAWALE; LEE, 2012).

Uma população bacteriana pode tornar-se resistente por meio de dois processos: aquisição de genes de resistência por transferência horizontal ou por mutação espontânea e seleção (TENOVER, 2006). A transferência horizontal de genes de resistência envolve mecanismos naturais de recombinação gênica importantes no processo evolutivo das bactérias, sendo a conjugação o principal processo de disseminação de genes de resistência

(TORTORA; FUNKE; CASE, 2012). Além disso, os elementos genéticos móveis tais como plasmídeos, transposons e integrons também estão envolvidos no mecanismo de rápida disseminação de determinantes de resistência em *Salmonella*, conferindo resistência a uma variedade de antimicrobianos amplamente utilizados na medicina humana e na produção animal (CASTANHEIRA, 2013; HUR; JAWALE; LEE, 2012).

É comprovada que a transferência de genes de resistência via conjugação pode ocorrer entre gêneros e espécies de bactérias distintas, que convivem no mesmo ambiente. Dahshan (2010) comprovou a eficácia de conjugação entre uma cepa de *S. enterica* sorovar Stanley, como doadora, e uma cepa de *Escherichia coli*, como receptora, na transferência de um plasmídeo contendo integron de classe 1, o que possibilitou a bactéria receptora expressar os genes de resistência a ampicilina (*bla*_{TEM}), cloranfenicol (*catA*), estreptomicina (*aadA2*), sulfametoaxol (*sul1*), oxitetraciclina (*tetA*), trimetoprim (*drfA12*) e kanamicina (*aphA1*). A possibilidade de transferência de genótipos de *Salmonella* multirresistentes entre diferentes bactérias aumenta as implicações clínicas e epidemiológicas na medicina humana e veterinária.

2.5.1 Genes de Resistência aos Beta-Lactâmicos

Os β -lactâmicos são antimicrobianos de maior utilização na prática clínica humana e veterinária, e agem na célula bacteriana por mecanismos que inibem a síntese da parede celular (COAN, 2014; GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010). Na avicultura intensiva, os β -lactâmicos mais utilizados são das classes das penicilinas (penicilinas, amoxicilina) e cefalosporinas (ceftiofur) (SANTANA et al., 2011). A principal forma de resistência das bactérias aos β -lactâmicos é a produção das β -lactamases, enzimas capazes de clivar o anel β -lactâmico, impedindo a ligação do antibiótico nas proteínas ligadoras de penicilina (PBPs), responsáveis pela síntese da parede celular da bactéria (BUSH, 2010). Os genes codificadores das enzimas β -lactamases (genes *bla*) estão localizados no cromossomo bacteriano ou em elementos genéticos móveis (plasmídeos e transposons), importantes determinantes de disseminação dos genes *bla* e de outros tipos de resistência (WELDHAGEN, 2004).

Existem mais de 700 β -lactamases descritas e podem ser classificadas usando modelos de Ambler ou Bush-Jacob-Medeiros (AMBLER et al., 1991; BUSH; JACOB; MEDEIROS, 1995; HUR; JAWALE; LEE, 2012). As β -lactamases de espectro estendido (EBSL) são aquelas capazes de hidrolisar cefalosporinas, penicilinas e aztreonam, e sua emergência e disseminação tem sido descrita mundialmente como uma grande

problemática para a assistência à saúde (SILVA; LINCOPAN, 2012). Dentre as inúmeras variantes, as EBSL mais relatadas em *Salmonella* spp. incluem derivados das famílias TEM, OXA, SHV, CMY e CTX-M, sendo que esta última é relatada como predominante nos cinco continentes e em isolados de origem avícola (BUSH, 2010; FERNANDES et al., 2009; RODRIGUEZ et al., 2009; SILVA; LINCOPAN, 2012).

Destaca-se que os plasmídeos que transportam genes para EBSL, comumente, transportam juntamente genes que conferem resistência a outras classes de antimicrobianos como aminoglicosídeos, sulfonamidas, tetraciclinas, cloranfenicol e trimetoprim (SOUZA JUNIOR; FERREIRA; DA CONCEIÇÃO, 2004). Fernandes et al. (2009) identificaram enzimas CTX-M-2 em isolados de *Salmonella* ser. Typhimurium a partir de fontes clínicas de seres humanos, de aves e de suínos e seus respectivos ambientes de criação e de alimentos. As cepas produtoras de ESBL nesse estudo eram resistentes a vários outros agentes antimicrobianos e através de um experimento de conjugação, os autores verificaram que alguns dos isolados foram capazes de mobilizar a resistência à tetraciclina e sulfametoxazol trimetoprim juntamente com o gene *bla*CTX-M-2. Conforme os autores, o gene responsável ESBL para resistência às cefalosporinas é frequentemente co-transferido com outros determinantes de resistência a múltiplas drogas, o que contribui para fenótipo de resistência.

As enzimas do tipo AmpC β -lactamases é um grupo de beta-lactamases de importância para clínica médica e veterinária, pois trata-se de um grupo capaz de mediar resistência a quase todas as cefalosporinas (HUR; JAWALE; LEE, 2012). Em *Salmonella*, o grupo CMY são as enzimas AmpC β -lactamases mais descritas, sendo responsáveis pela resistência de espectro estendido às cefalosporinas de última geração, antimicrobianos usados para tratamento de animais e seres humanos infectados com *Salmonella* spp. (COAN, 2014; WHO, 2014). Biffi et al. (2014) detectaram genes de resistência ao ceftiofur em *Salmonella* ser. Typhimurium isoladas de amostras de várias fontes da cadeia de produção de frangos do Brasil. Os genes CMY-2 e Amp C foram detectados em 27,2% e 54,5%, respectivamente, dos isoladas de *Salmonella* ser. Typhimurium resistentes fenotipicamente ao ceftiofur.

2.5.2 Genes de Resistência ao Trimetoprim e a Sulfonamidas

As sulfonamidas, conhecidas como sulfas, e o trimetoprim são antibióticos sintéticos pertencentes a classe dos inibidores de folatos, pois alteram o metabolismo da bactéria através do bloqueio da síntese do ácido fólico, elemento fundamental para duplicação do DNA. Esses fármacos apresentam efeito sinérgico, podendo ser utilizados combinados,

pois agem bloqueando sequencialmente a síntese de tetra hidrofolato do micro-organismo, importante co-fator que fornece uma unidade de carbono na biossíntese de bases pirimidínicas constituintes dos ácidos nucleicos (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010; NAVIA et al., 2003). A sulfá inibe de forma competitiva com a enzima di-hidropteroato sintetase (DHS), presente apenas nas bactérias, enquanto o trimetoprim inibe a enzima di-hidrofolato redutase - DHFR (HUR; JAWALE; LEE, 2012). Na avicultura, o trimetoprim é normalmente associado à sulfametoxazol, pois quando utilizado isoladamente como antimicrobiano induz rapidamente resistência bacteriana (PARLEMO-NETO; SPINOSA; GORNIAR, 2005).

O mecanismo de resistência mais comum ao trimetoprim e as sulfas é a aquisição de genes que expressam uma variante com enzimas DHFR e DHS alteradas, com alvo insensível a ação antimicrobiana. Para o trimetoprim, existem mais de 30 genes diferentes de resistência *dfr* e conforme o comprimento do polipeptídeo codificado, são divididos em dois tipos principais: *dfrA* e *dfrB*. A resistência bacteriana às sulfonamidas tem sido atribuída a presença de três genes *sul* (*sul1*, *sul2* e *sul3*) (ABATCHA et al., 2014; ANTUNES et al., 2005).

Os genes de resistência ao trimetoprim e sulfonamidas estão frequentemente associados com elementos genéticos móveis tais como os integrons, o que permite a dispersão de resistência por via transferência horizontal. Esses genes juntamente com diversos outros determinantes de resistência à antimicrobianos em *Salmonella* são frequentemente associados a Ilha Genômica 1 (*Salmonella Genomic Island*, SGI-1), uma região de 43kb que contém um agrupamento gênico composto de complexos integrons de classe 1, transferíveis por meio de plasmídeos conjugativos (KELLY; VESPERMANN; BOLTON, 2009). Estudos epidemiológicos comprovam a predominância dos genes *sul1*, *sul2* e *sul3* e *dfrA* em cassetes gênicos de integrons de classe 1 em *Salmonella* spp. de diferentes sorovares, isoladas de aves e de carne de frango (AGERSO et al., 2006; CHEN et al., 2004; LU et al., 2014; MATIELLO et al., 2015; MOHAMED et al., 2014; WANG et al., 2010; WANG et al., 2015).

2.5.3 Genes de resistência às tetraciclina

As tetraciclina são antibióticos com ação bacteriostática contra a maioria das bactérias Gram positivas e Gram negativas, agindo na inibição da síntese proteica através da sua ligação reversível à subunidade 30s do ribossomo bacteriano (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010). Suas vantagens incluem o excelente índice terapêutico, o baixo custo e a disponibilidade de uso oral em pacientes. Esses fatores motivaram seu intenso uso

na medicina humana e veterinária e na indústria de rações de animais (PARLEMO-NETO; SPINOSA; GORNIAR, 2005; THAKER; SPANOGIANNOPOULS; WRIGHT, 2010).

A trajetória das tetraciclina na medicina fornece informações relevantes do impacto da resistência a uma classe de antibióticos. Desde a sua descoberta, o uso por 65 anos desses agentes antimicrobianos na clínica e na agropecuária manteve uma contínua pressão seletiva, o que levou a uma expansão da resistência antimicrobiana em bactérias patogênicas, comensais e ambientais (FORSBERG et al., 2015; THAKER; SPANOGIANNOPOULS; WRIGHT, 2010). No Brasil, a tetraciclina é um dos antimicrobianos com maior índice de resistência em *Salmonella enterica* isoladas de aves, fontes ambientais avícolas e em abatedouros (CORTEZ et al., 2006; DUARTE et al., 2009; MATIELLO et al., 2015; MORAES et al., 2014; PANDINI et al., 2014; VOSS-RECH et al., 2014).

A resistência a essa classe é tipicamente adquirida por gene de resistência (*tet*) por via horizontal, através de plasmídeos conjugativos, que possibilita a mobilidade por transferência genética, ou inseridos em transposons (AUERBACH et al., 2007). Esse fator levou ao surgimento de um “resistoma”, ou seja, a agregação dos genes de resistência antimicrobiana, da classe das tetraciclina muito diverso, com descrição de 1189 genes identificados em 357 espécies de bactérias Gram Positivas e Gram Negativas (THAKER; SPANOGIANNOPOULS; WRIGHT, 2010).

Nas bactérias, os genes *tet* determinam três mecanismos de resistência às tetraciclina: ativação de bombas de efluxo; proteção dos ribossomos por alterar a sua conformação de ligação ao antibiótico; ou produção de enzimas que inativam às tetraciclina (THAKER; SPANOGIANNOPOULS; WRIGHT, 2010). Em *Salmonella enterica*, o mecanismo de bombas de efluxo é o mais associado a resistência às tetraciclina (HUR; JAWALE; LEE, 2012; MATIELLO et al., 2015). Localizadas na membrana celular das bactérias, as bombas de efluxo realizam um sistema de expulsão da droga, diminuindo a concentração do antimicrobiano dentro da célula (PIDDOCK, 2006). Existem 27 classes de determinantes de resistência para esse mecanismo, sendo que *tetA*, *tetB*, *tetC* e *tetG* são os mais comumente encontrados em *S. enterica* fenoticamente resistente às tetraciclina em isolados de seres humanos, de aves e de produtos de origem animal (ADESIJI et al., 2014; BEUTLICH et al., 2011; GLENN et al., 2013; LOUDEN et al., 2012; LU et al. 2014).

2.5.4 Genes de Resistência às Quinolonas

As quinolonas são um grupo de agentes antimicrobianos sintéticos que surgiram no início da década de 60, durante o processo de síntese da cloroquina, agente para

tratamento da malária. O ácido nalidíxico foi a primeira quinolona introduzida na clínica médica, e a partir de modificações de sua estrutura, com adição um átomo de flúor e um grupo piperazini, surgiram várias gerações de fluoroquinolonas (SILVA; HOLLENBACH, 2010). Esses antimicrobianos atuam na inibição da síntese de DNA bacteriano, através de ligações com as enzimas DNA girase (bactérias Gram negativas) e topoisomerase IV (bactérias gram positivas), apresentando efeito bactericida (BAPTISTA, 2013).

Na clínica médica humana, as fluorquinolonas são os principais antimicrobianos utilizadas para tratamento de infecções por Gram-negativos, tais como infecções extra-intestinais graves por *Salmonella* spp. (OIE, 2015; SOUZA, MAGNAN; OLIVEIRA, 2010). As fluorquinolonas de uso veterinária mais largamente utilizada em aves e suínos são o ácido nalidíxico e a enrofloxacin, especialmente no tratamento de infecções por *Escherichia coli* (PHILLIP et al., 2004).

A resistência as quinolonas é determinada por mecanismos mediados por mutações no cromossomo, alterações nos sítios de ligação da DNA girase e diminuição no acúmulo do agente no interior da bactéria por impermeabilidade da membrana ou efeito de bombas de efluxo (PIDDOCK, 2006). As mutações em regiões específicas do gene *gyrA* é o principal mecanismo associado a resistência às quinolonas. Esse mecanismo é capaz de alterar o sítio de ligação do antimicrobiano à DNA girase, provocando fenótipos com elevada resistência às quinolonas não fluoradas como ácido nalidíxico, além de reduzir a suscetibilidade a fluoroquinolonas (SOUZA, MAGNAN; OLIVEIRA, 2010).

Outro mecanismo descrito são os genes *qnr* que codificam pentapeptídeos repetidos que se ligam ao sítio alvo da DNA girase, protegendo a enzima contra ação do antimicrobiano. Esses genes de resistência agrupam-se em cinco famílias: *qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrD* e *qnrS*. Em *Salmonella enterica*, os genes *qnrA*, *qnrB* e *qnrS* são os mais frequentemente detectados em isolados com resistência às quinolonas da cadeia produtiva de aves, sendo que *qnrD* até o momento não foi registrado no Brasil (AL-GALLAS et al., 2013; CATTOIR et al, 2007; DRESCHER, 2013; FERRARI et al., 2011; VELDMAN et al., 2011). Ressalta-se que a disseminação dos genes *qnr* envolve elementos móveis como plasmídeos, que podem carrear outros genes de resistência codificadores de EBSL ou AmpC (COAN, 2014).

2.6 O ABATE CLANDESTINO DE AVES

A carne de frango é a segunda principal fonte de proteína animal consumida em todo o mundo (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURA - USDA,

2016). Nas últimas décadas, os consumidores desse tipo de alimento têm aumentado progressivamente e essa realidade tem possibilitado o crescimento da indústria avícola em vários países inclusive o Brasil (OLIVEIRA, 2011). A consolidação do sistema de integração, o investimento em grandes parques industriais de alta tecnologia e em programas de biossegurança em toda cadeia produtiva fizeram do país destaque mundial em produção e exportação da carne de frango (NUNES; SANTOS; MINHARRO, 2011).

Em 2014, o Brasil produziu 12,69 milhões de toneladas de carne de frango, nos quais 67,7% foram destinados ao mercado interno, sendo Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul os estados com maior volume de abate de aves (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL - ABPA, 2015). Apesar da expressiva produção industrial no país, em algumas regiões, uma parte do mercado interno de carne de frango ainda é abastecido pelo abate de aves de forma informal e sem inspeção sanitária.

A avicultura brasileira surgiu e se expandiu a partir das regiões Sul e Sudeste, onde ainda se concentra o maior volume de aves em sistema de confinamento e de abatedouros avícolas, sob serviço de inspeção federal - SIF (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL - ABPA, 2015; RAVAGNANI et al., 2012). A indústria avícola tem se expandindo para as regiões Norte e Nordeste do Brasil, com implantação de estabelecimentos avícolas comerciais, entretanto ainda existem poucas indústrias de abate e processamento da carne de frango (MINHARRO et al., 2015). O resultado é o aumento de produção de aves aliado ao aumento do número de abatedouros clandestinos, o que, por sua vez, eleva o risco de transmissão de zoonoses para os consumidores (VIANA et al., 2014).

Apesar de não haver dados oficiais sobre o número de estabelecimentos que praticam o abate informal, a procura por aves abatidas na hora, produzindo a denominada “carcaça quente” em mercados e feiras é comum, sendo registrada não somente em cidades pequenas, mas em regiões metropolitanas como Recife (MOURA FILHO et al., 2010), Porto Alegre (FRANCISCO et al., 2007), São Paulo (MENUCCI, 2006), São Luís (PASSOS et al., 2015), Belém (VALENTE et al., 2010) e Manaus (TIROLLI; COSTA, 2006).

Menucci (2006) descreve que os fatores que possibilitam a permanência do abate clandestino de aves no Brasil estão relacionados com problemas socioeconômicos, tais como a elevada carga tributária do país, levando a sonegação de impostos e a atividades ilegais, e as pequenas criações de aves de subsistência que realizam o abate para consumo da família e ainda disponibiliza para o mercado consumidor. No entanto, os hábitos culturais regionais são determinantes para perpetuação de estabelecimentos informais de abate de aves, pois gera oferta e procura pelo produto. A preferência pelas aves recém abatidas está

associada a ideia de que carne é mais saudável e com melhores características sensoriais (PASSOS et al., 2015).

O impacto da clandestinidade no setor de carnes gera prejuízos não somente para o setor produtivo, mas ao bem-estar dos animais, ao meio ambiente e principalmente para saúde pública. A ausência de procedimentos técnicos de insensibilização das aves, a falta de condições de higiene no processamento da carne, a geração de resíduos orgânicos e a disseminação de agentes patogênicos nas proximidades dos abatedouros são algumas situações prejudiciais provocadas por esse tipo de atividade (SILVEIRA et al., 2015).

O abate de animais é considerado clandestino quando é praticado sem fiscalização pelo serviço de inspeção sanitária e/ou com sonegação fiscal (BÁNKUTI; AZEVEDO, 2001). A inspeção sanitária nos abatedouros é fundamental para identificação de tecnopatias e alterações patológicas nas carcaças de aves, evitando ao mercado consumidor produtos de baixa qualidade e/ou que podem desencadear doenças como listeriose, estreptococose, intoxicações estafilocócicas e salmoneloses (MIRANDA, 2002). Além disso esse serviço executa e gera um banco de dados para programas sanitários nacionais, como o Programa de Redução de Patógenos (PRP), que tem como um dos objetivos o monitoramento da *Salmonella* em produtos avícolas (BRASIL, 2003b).

Dentre as várias contaminações biológicas registradas em carnes de aves provenientes do abate clandestino, ressalta-se a *Salmonella* como o agente zoonótico de origem alimentar de maior importância para saúde pública nacional. A detecção de *Salmonella* em carcaças de frango obtidas de abatedouros sem fiscalização tem sido registrada com taxas de 9,5% a 50% de contaminação (BARROS; RIBEIRO; CASELLI, 2014; BRITO et al., 2010; MALDONADO, 2008; MOURA FILHO et al., 2010; TIROLI e COSTA, 2006). O transporte e manejo pré-abate dos frangos e a temperatura de conservação das carcaças abatidas são apontados pelos autores como fatores importantes de contaminação e disseminação da *Salmonella* nos abatedouros clandestinos de aves.

Tirolli e Costa (2006) relatam que as aves destinadas ao abate em feiras são confinadas e aglomeradas em caixas por longas distâncias e em condições inadequadas no aspecto sanitário, provocando o estresse e possíveis contaminações cruzadas de infecções por *Salmonella* entre as aves. Costa (2014) descreve ainda que o jejum pré-abate geralmente não é adotado no manejo das aves vivas, em virtude delas permanecem dentro dos estabelecimentos por horas ou dias, dependendo da ocasião de procura do cliente para ser então executado o abate, situação que eleva o risco de rompimento do inglúvio ou/e intestino e consequente contaminação da carcaça.

Um fator relevante é a comercialização de carne de frango “quente”, ou seja, recém-abatida, nas quais não são conservadas sob refrigeração. Barros, Ribeiro e Caselli (2014) encontraram contaminação por *Salmonella* de 28,3% em 60 carcaças analisadas em Feira de Santana, Bahia, e verificaram que a temperatura mínima das carcaças “quentes” comercializadas era de 30°C. Brito et al. (2010) analisaram 40 amostras de carcaças de frango de mercados públicos de São Luís, Maranhão, e detectaram contaminação por *Salmonella* de 12,5% e por *Staphylococcus* coagulase positivos de 45%, contagem máxima de 10⁷ UFC/g de carne de frango analisada. Conforme os autores, a falta de refrigeração das carcaças de frango nesses locais contribui para aumentar a carga microbiana, visto que a temperatura ambiente gera condições ótimas para o desenvolvimento da maioria das bactérias patogênicas.

Portanto, tornam-se importante pesquisas que avaliem o impacto que o abate clandestino de aves pode provocar sobre a qualidade sanitária da carne comercializada para populações que ainda preservam o hábito de consumir da carcaças recém-abatidas, visto que existem vários fatores desse tipo de abate que podem elevar as chances de ocorrer a contaminação por patógenos causadores de enfermidades para os consumidores.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

- Avaliar os aspectos epidemiológicos e o perfil de resistência antimicrobiana de *Salmonella* spp. e seus sorovares na cadeia produtiva de frangos de corte da Mesorregião Norte do Estado do Maranhão.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a ocorrência de *Salmonella* spp. em aviários, em aves e em abatedouros avícolas da Mesorregião Norte do Estado do Maranhão;
- Identificar os sorovares de *Salmonella* spp. isoladas da cadeia produtiva de frangos;
- Determinar o perfil fenotípico de resistência antimicrobiana dos isolados de *Salmonella* spp.
- Identificar os fenótipos com resistência múltipla a drogas (MDR) em isolados de *Salmonella* spp.;
- Detectar os genes que codificam resistência antimicrobiana em sorovares de *Salmonella* de importância para saúde pública, fenotipicamente resistentes aos beta-lactâmicos, sulfonamidas, trimetoprim e tetraciclina;
- Avaliar a contaminação por coliformes termotolerantes, *Salmonella* spp. e microorganismos aeróbios mesófilos em carne de frango de mercados públicos da Mesorregião Norte do Maranhão;
- Determinar os fatores do abate artesanal associados a contaminação por *Salmonella* spp. em carcaças de frango.

4 ARTIGO A

FONTES DE SALMONELAS PARATÍFICAS NA CADEIA PRODUTIVA DE FRANGOS DE CORTE DA MESORREGIÃO NORTE DO ESTADO DO MARANHÃO, BRASIL.

SOURCES OF PARATYPHOID SALMONELLAS IN BROILER PRODUCTION CHAIN OF MARANHÃO STATE, BRAZIL.

RESUMO

As salmonelas paratíficas causam grande impacto para avicultura moderna, por se tratar de uma das principais causas de doenças de origem alimentar no mundo. Há um esforço de órgãos governamentais e da indústria avícola em diminuir a presença da *Salmonella* em toda cadeia produtiva de aves, através de programas sanitários. O objetivo desse trabalho foi pesquisar a ocorrência da *Salmonella* spp. e seus sorovares em fontes ambientais de produção, em aves e em carcaças abatidas de forma artesanal na Mesorregião Norte do Estado do Maranhão, Brasil. Foram coletadas 240 amostras de suabe de arrasto, propé, fezes cecais e ração de comedouros, 100 amostras de suabes de cloaca de aves destinadas ao abate e 180 amostras de carcaças recém abatidas. As amostras foram submetidas a cultura e isolamento de *Salmonella* spp. e sorotipificação. A ocorrência do gênero *Salmonella* foi de 25,0% (15/60) em suabe de arrasto, 16,6% (10/60) de propé, 1,7% (1/60) em fezes cecais, ausência (0/60) em ração, 7% (7/100) de suabe cloacal e 48,9% (88/180) em carcaças de frango. Foram identificados 15 sorovares de *Salmonella enterica* nas amostras, sendo os de maior ocorrência: Schwarzengrund (28,09%; 34/121), Albany (19,83%; 24/121), Enteritidis (7,43%; 9/121) e Heidelberg (7,43%; 9/121). *Salmonella* ser. Schwarzengrund apresentou maior predominância na cadeia produtiva de aves, com maior isolamento em amostras de carcaça (34 isolados) enquanto *Salmonella* ser. Enteritidis teve maior ocorrência na cadeia inicial de produção. Os resultados encontrados indicam a necessidade de implementação do controle sanitário nas granjas para as salmonelas paratíficas e que o abate artesanal de aves pode aumentar a disseminação da bactéria no produto final, representando risco para saúde pública.

Palavras-Chave: avicultura, carcaça, granjas, *Salmonella* Schwarzengrund, salmonelose,

ABSTRACT

The nontyphoidal salmonella cause great impact on modern poultry farming, because it is a major cause of foodborne illness in the world. There is an effort of government and the poultry industry in trying to hinder the presence of *Salmonella* throughout the broiler production chain, through sanitary programs. The aim of this study was to investigate the occurrence of *Salmonella* and its serotypes in sources of environmental in poultry and in fresh carcasses slaughtered and marketed in the North Region of State of Maranhão, Northeastern Brazil. There were collected 240 samples of drag swab, boot swab, cecal feces and feeding of feed, 100 cloacal swab samples and 180 samples of fresh chicken carcasses. The samples were subjected to isolation and culture of *Salmonella* spp. and serotyping. The occurrence of the genus *Salmonella* was 25.0% (15/60) in drag swab, 16.7% (10/60) of boot swab, 1.7% (1/60) in cecal feces, absence (0/60) in feed, 7% (7/100) of cloacal swabs and 48.9% (88/180)

in chicken carcasses. They were identified 15 different serotypes of *Salmonella enterica* of the samples, and the serovar were mostly: Schwarzengrund (28.09%; 34/121), Albany (19.83%; 24/121), Enteritidis (7.43%; 9 / 121) and Heidelberg (7.43%; 9/121). *Salmonella* ser. Schwarzengrund had a higher prevalence in the poultry production flow, mainly in chicken meat (34 isolates), while *Salmonella* ser. Enteritidis serovar had a higher occurrence in the initial production chain. The results indicate the need for implementation of sanitary control on farms for nontyphoidal *Salmonella* and that the small-scale broiler slaughter without sanitary inspection may increase the spread of *Salmonella* spp. in the final product, representing a risk to public health.

Key Words: carcass, farms, poultry production, *Salmonella* Schwarzengrund, salmonellosis.

Introdução

Salmonella enterica permanece como a principal bactéria entérica causadora de doença de origem alimentar, em todo mundo (ANDINO; HANNING, 2015; CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION - CDC, 2011). Dentre os vários hospedeiros, as aves são consideradas um importante reservatório de sorovares de salmonelas capazes de provocar doenças em seres humanos e os produtos de origem avícola são a principal forma de introduzir o micro-organismo na cadeia alimentar (CARDOSO; TESSARI, 2008).

O consumo da carne de frango tem aumentado progressivamente, sendo considerada dominante na alimentação dos brasileiros e a segunda mais consumida no mundo (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO, 2015; UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURA - USDA, 2016). A elevada demanda desse produto oportunizou o desenvolvimento e a consolidação da indústria avícola em vários países. O Brasil é atualmente uma referência de produtor e exportador de carne de frango (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL - ABPA, 2015). De forma associada, o consumo de produtos de origem avícola tornou-se um fator de risco para a ocorrência de salmoneloses humanas (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS/ WORLD HEALTH ORGANIZATION – FAO/WHO, 2009). O sistema de produção em alta densidade aliado a alta suscetibilidade das aves à colonização por *Salmonella* em seu trato intestinal tem favorecido a disseminação e a perpetuação da bactéria na cadeia de produção de frangos, tornando-se um problema na avicultura mundial (ANDREATTI et al., 2009; VOLKOVA et al., 2009).

Em doenças de impacto econômico e de risco à saúde pública, a aplicação de programas de biosseguridade é a principal forma de manter os sistemas de criação livres ou controlados de enfermidades. Porém, no que diz respeito à *Salmonella* spp., o controle da

doença é dificultado pela epidemiologia complexa, envolvendo uma grande variedade de sorovares sem hospedeiros específicos, o que possibilita inúmeros reservatórios e diversas fontes de contaminação ambiental (CARDOSO et al., 2013; FOLEY et al., 2013). O conhecimento da ocorrência da *Salmonella* e os sorovares circulantes nas granjas ou lotes auxilia no estabelecimento de medidas mais específicas e eficazes no controle da doença (REVOLLEDO, 2008).

O paratifo aviário é a salmonelose aviária de maior risco para a avicultura, especialmente por sua importância para saúde pública (CARDOSO et al., 2013). Nesse grupo das salmoneloses enquadram-se os sorovares não exclusivos de aves, que provocam infecções subclínicas, sendo capazes de permanecer no trato gastrointestinal de frangos até o abate (ANDINO e HANNIG, 2015; BERCHIERI JÚNIOR et al., 2009). Dentre as salmonelas paratíficas, *Salmonella enterica* sorovar Enteritidis e *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium são dominantes em surtos associados a ovos e carne de frango. O controle desses agentes é um dos critérios para certificação sanitária de estabelecimentos avícolas do Brasil, conforme preconizado pelo Plano Nacional de Sanidade Avícola (PNSA) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), tendo como finalidade garantir a qualidade sanitária e inocuidade dos alimentos produzidos no país (BRASIL, 2003).

Na indústria, a presença da *Salmonella* spp. nas carcaças de frango ocorre por meio de uma contaminação inicial proveniente das próprias aves, sendo que a presença da bactéria no intestino dos frangos é o principal fator de risco para a contaminação da carne (HUE et al., 2011; ARSENAULT et al., 2007). As operações de abate e sucessivas manipulações pode resultar na contaminação cruzada da carne e de seus subprodutos (VON RÜCKERT et al., 2009). As condições higiênicas dos abatedouros e as técnicas de abate aplicadas são fatores determinantes para disseminar a contaminação por *Salmonella* sob as carcaças (LUNDGREN et al., 2009).

Os estudos realizados no Brasil mostram grandes variações na prevalência e na distribuição de sorovares de *Salmonella* em carcaças de frango oriundas de abatedouros, sob inspeção sanitária (BONI; CARRIJO; FASCINA, 2011; CARDOSO et al., 2015; DUARTE et al., 2009; MINHARRO et al., 2015; MOREIRA et al., 2008). A maior parte das pesquisas é conduzida nas regiões sul, sudeste e centro-oeste, onde existe a maior concentração de aves em sistema de confinamento e de abatedouros sob serviço de inspeção federal (RAVAGNANI et al., 2012). A indústria avícola brasileira continua expandindo-se para as regiões Norte e Nordeste do Brasil, com implantação de estabelecimentos comerciais, porém com poucas indústrias processadoras da carne de frango. São escassos os estudos

epidemiológicos sobre *Salmonella* spp. em granjas e produtos avícolas nessas regiões, onde o abate de aves de forma artesanal e em pequena escala ainda é uma prática comum. Assim, considerando os prejuízos socioeconômicos provocados pela *Salmonella* spp. e os riscos para saúde pública, objetivou-se neste trabalho pesquisar as fontes de *Salmonella* spp. e determinar seus sorovares na cadeia produtiva de frangos de corte presente na Mesorregião Norte do Estado do Maranhão, Brasil.

Material e Métodos

Tamanho da amostra

A pesquisa foi realizada na Mesorregião Norte do Estado do Maranhão, representadas pelas microrregiões de Itapecuru-Mirim e Aglomeração Urbana de São Luís (Figura 1). No universo da cadeia de produção, a pesquisa concentrou-se em granjas avícolas, entrepostos de distribuição das aves e abatedouros artesanais de mercados públicos municipais, visto que não existia abatedouro industrial de aves com fiscalização sanitária no Estado.

Figura 1. Mapa com destaque a Mesorregião Norte do Estado do Maranhão, local de realização da pesquisa



Fonte www.ibge.gov.br/ adaptado

Amostragem

Durante o período de 2013 a 2014, foram coletadas e analisadas 240 amostras de 60 aviários contendo lotes de frangos com idade entre 35 a 45 dias de vida. Os aviários continham entre 15.500 a 32.000 aves, em sistema de climatizado e semi-climatizado, utilizavam a casca de arroz como cama aviária e a reutilizavam por até três lotes.

De cada aviário, foram colhidas amostras de dois suabes de arrasto da cama aviária, quatro propés esterilizados, 200 gramas de fezes cecais frescas e 300 gramas de ração dos comedouros, seguindo as orientações do MAPA (BRASIL, 2013). Os suabes de arrasto da cama aviária foram realizados ao longo das linhas de bebedouros e comedouros, com auxílio de propés esterilizados, e em seguida reunidos em uma única amostra por aviário, sendo acondicionados em frascos contendo água peptonada tamponada a 0,1%. As amostras de fezes cecais frescas (consistência pastosa e de coloração marrom esverdeada) foram colhidas em diferentes pontos distribuídos ao longo do galpão, reunidas em uma única amostra, através de espátulas e coletores estéreis. Quanto a ração, cada amostra foi composta de porções coletadas aleatoriamente em 12 comedouros localizados nas laterais e no centro do aviário, em seguida colocada em coletor estéril e homogeneizados (MAPA/OPAS, 2010).

Foram colhidas amostras nos veículos de transporte de frangos de cinco entrepostos, através de suabes cloacais de 1000 aves de lotes diferentes, que se encontravam alojadas em gaiolas, no momento da distribuição para os abatedouros. Cada amostra de suabe cloacal correspondeu um *pool* de 10 suabes cloacais, totalizando 100 amostras.

Foram sorteados 20 mercados públicos que representavam um conglomerado e então, colhidas amostras de carcaças de frangos dos abatedouros artesanais durante o período da manhã, totalizando 180 amostras de carcaças inteiras. As amostras colhidas logo após o abate foram acondicionadas em sacos de polietileno estéril, identificadas e transportadas em caixa de material isotérmico contendo gelo reciclável e analisadas no máximo duas horas após a coleta.

Análises microbiológicas

As amostras foram processadas no Laboratório de Microbiologia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão (IFMA). Iniciou-se com o pré-enriquecimento das amostras, no qual os suabes de cloaca e suabes de arrasto de cama aviária foram imediatamente incubados à 37°C por 18 a 20 horas. As amostras de fezes e ração foram pesadas (25g) e diluídas em 225 mL de água peptonada tamponada a 1%,

homogeneizada e incubadas à 37°C por 18 a 20 horas. As carcaças de frango foram analisadas pela técnica de enxaguadura, com o uso de 300 mL água peptonada tamponada a 1% (COX, 1978). A solução obtida foi transferida, assepticamente, para um recipiente estéril e incubada nas mesmas condições das demais amostras.

Para pesquisa de *Salmonella*, as amostras foram submetidas a etapa de enriquecimento na proporção 1:10 em caldo Selenito-Cistina (1mL/10mL) e 1:100 em caldo Rappaport Vassiliadis (0,1 mL /10mL), e então, incubadas à 42°C durante 18 a 24 horas. Posteriormente, as amostras foram semeadas em meios indicadores seletivos: Agar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD), Agar Verde Brilhante Vermelho De Fenol Lactose Sacarose (BPLS), Agar *Salmonella Shigella* (SS) e Agar Entérico de Hektoen (HE). Após a incubação a 37°C por 24 horas, as colônias suspeitas de *Salmonella* spp. foram isoladas e submetidas aos testes bioquímicos em ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI), Agar Lisina Ferro (LIA), SIM e caldo ureia, seguindo metodologia recomendada pelo MAPA (BRASIL, 1995). As cepas que apresentaram reações características de *Salmonella* no Ágar TSI e LIA, móveis ou imóveis no SIM, negativas para o teste do indol e urease foram caracterizadas antigenicamente através do teste de aglutinação rápida com o anti-soro polivalente somático (Probac®). Os isolados de *Salmonella* foram cultivados em ágar nutriente e remetidos ao Laboratório de Enterobactérias da Fundação Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro (IOC/FIOCRUZ, RJ, BRASIL) para a sorotipificação antigênica.

A pesquisa foi aprovada pelo Comissão de Ética no Uso de Animais em Pesquisa da Universidade Estadual de Londrina (UEL) sob número 15093.2014.96.

Resultados e Discussão

Salmonella spp. foi isolada em todas as etapas de cadeia de produção de frangos (Tabela 1). Do total de 520 amostras analisadas, 121 (23,26%) foram positivas para *Salmonella* spp., destas, 7 (1,3%) foram de suabe cloacal de aves, 26 (5,0%) de amostras do ambiente de criação de frangos e 88 (16,92%) de amostras de abatedouros.

Os resultados encontrados na cadeia produtiva de frangos do Maranhão foram superiores aos encontrados por Boni, Carrijo e Fascina (2011) que observaram uma contaminação por *Salmonella* de 11,28% em 257 amostras da cadeia produtiva de frangos da região de Campo Grande, Estado de Mato Grosso do Sul, sendo 1,95% provenientes dos locais de criação e 9,33% do abatedouro. Borsoi et al. (2005) verificaram a ocorrência de 16 (15,8%) de 101 amostras ambientais e 22 (12,2%) de 180 amostras de abatedouros da cadeia de produção do Rio Grande do Sul.

Tabela 1- Ocorrência de *Salmonella* spp. na cadeia de produção de frangos de corte do Estado do Maranhão, 2013 a 2014

Tipos de amostras	Tamanho da amostra (n)	Presença de <i>Salmonella</i>	
		N	%
Amostras de aviários			
Suabe de arrasto	60	15	25,0
Propé	60	10	16,7
Fezes frescas	60	01	1,7
Ração	60	0	0
Amostras de Aves			
Suabe de cloaca	100	07	7,00
Amostras de abatedouros			
Carcaças de frango	180	88	48,9
Total	520	121	23,3

Avaliando as amostras do ambiente de criação das aves, verificou-se que o isolamento da *Salmonella* foi de 25% (15/60) em amostras de suabe de arrasto, 16,7% (10/60) em amostras de propé e apenas 1,7% (1/60) em amostras de fezes cecais (Tabela 1). Não foi isolada *Salmonella* spp. nas amostras de ração dos comedouros analisadas (0/60).

Constatou-se que 20 dos 60 aviários tiveram o isolamento da *Salmonella* em alguma das amostras ambientais analisadas, sendo que os suabes de arrasto apresentaram a maior taxa de isolamento, com 15 amostras positivas (25,0%). Esses resultados foram superiores aos trabalhos de Pandini et al. (2015), que verificaram ocorrência de *Salmonella* em 11,4% das amostras de suabes de arrasto de aviários do Paraná, e por Andreatti et al. (2009) que encontraram ocorrência de 2,7% em aviários de propriedades avícolas de São Paulo.

A técnica de suabe de arrasto é um método eficiente para avaliar o *status* sanitário da cama aviária e indiretamente do lote de frangos. A cama é uma importante fonte de contaminação de *Salmonella* spp., pois pode albergar um grande número de bactérias por longos períodos e caso não seja tratada adequadamente, pode perpetuar agentes patogênicos para lotes subsequentes (SANTIN, 2014). A elevada ocorrência da *Salmonella* spp. em amostras de suabe de arrasto indica falhas no controle sanitário na produção, necessitando da implementação de programas de biossegurança para controle dessa bactéria. Cabe ressaltar que a elevada contaminação de *Salmonella* spp. em cama de aviário está associada com o aumento de isolamento da bactéria em carcaças de frango nos abatedouros (VOLKOVA et al., 2010), possivelmente por aumentar a contaminação externa do frango (penas e pele) ou a possibilidade de infecção via oral das aves.

No presente estudo, a ocorrência de *Salmonella* em suabes cloacais foi de 7% (7/100) (Tabela 1). O resultado encontrado foi inferior aos Chiu et al. (2010) que isolaram *Salmonella* spp. em 17 (11,3%) de 150 amostras de suabe cloacal de frangos com três semanas de idade. Resultados distintos também foram encontrados por Oliveira et al. (2006) que não isolaram *Salmonella* em 63 amostras de fezes de 21 lotes de frangos de corte em três fases de produção, na região Metropolitana de Fortaleza, Ceará. Ravagnani et al. (2012) também não isolaram *Salmonella* spp. em 100 suabes cloacais de frangos com idade média de 21 dias, na região Oeste do Paraná. Esses autores sugerem que o alto controle sanitário adotado pelas empresas integradoras influenciou na ausência da bactéria em frangos.

Destaca-se que as aves amostradas estavam sendo destinadas aos abatedouros da região. Assim, o isolamento da bactéria em aves vivas, em idade de abate, revela o estado de portador assintomático, considerado um dos fatores epidemiológicos mais importantes para a presença da *Salmonella* nos abatedouros (ARSENAULT et al., 2007; HUE et al., 2011). Cardoso e Tessari (2008) ressaltam que um pequeno número de animais infectados com *Salmonella* spp. que chegam ao abatedouro pode provocar a contaminação de toda linha de abate, em locais onde as carcaças não são processadas corretamente. Portanto, quanto maior a prevalência nas aves vivas, espera-se maior a contaminação nas carcaças abatidas.

Das amostras analisadas da cadeia de produção de frangos em estudo, as carcaças de frangos de abatedouros foram as que apresentaram maior isolamento de *Salmonella* spp., com ocorrência de 48,9%. Esses resultados foram acima dos encontrados em pesquisas avaliando carcaças em abatedouros industriais no Brasil na última década, nos quais obtiveram ocorrência variando de 2,5 a 25,49% (CARDOSO et al., 2015; DUARTE et al., 2009; MINHARRO et al., 2015; MOREIRA et al., 2008; REZENDE et al., 2005; TESSARI et al., 2008;).

A elevada taxa de contaminação de carcaças por *Salmonella* pode ser atribuída aos vários fatores relacionados ao abate e processamento da carne nos abatedouros regionais avaliados. Sabe-se que, os estabelecimentos de mercados e feiras não são apropriados para realização de abate de animais, pois a infraestrutura dos locais permite às contaminações cruzadas de *Salmonella*, como na depenagem e na evisceração manual. Estudos apontam que o método de evisceração manual pode aumentar o risco de contaminação por *Salmonella* em abatedouros (RIVIERA-PEREZ, BARQUIO-CALVO; ZAMOURA-SANABRIA, 2014; VON RUCKERT et al., 2009). Uma vez a bactéria presente no intestino das aves, a falta de habilidade do operador no processo de evisceração pode

disseminar o micro-organismo por meio de utensílios, equipamentos e mãos dos manipuladores (STOPPA, 2011). Um dos pontos críticos de controle de *Salmonella* spp. é a depenagem. As penas podem ser fontes potenciais de contaminação, pois trazem para o abatedouro micro-organismos oriundos da granja e do transporte (RIGBY et al., 1982; VOLKOVA et al., 2010). O acúmulo de penas na área de depenagem, a água de escaldagem e a falta de higienização das depenadeiras podem contaminar as carcaças de frango com *Salmonella* (STOPPA, 2011).

A ocorrência de *Salmonella* spp. em carne de frango tende a ser maior em amostras coletadas de abatedouros artesanais presentes em mercados e feiras do Brasil (BARROS; RIBEIRO; CASELLI, 2014 et al., 2014; BRITO et al., 2010; MALDONADO, 2008; MOURA FILHO et al., 2010), como o encontrado por Tirolli e Costa (2006), que avaliaram 60 amostras de carcaças recém-abatidas de frango de seis zonas distintas da cidade de Manaus (AM) e constataram uma contaminação por *Salmonella* de 50%. Esses autores destacam o transporte como um fator importante de contaminação das aves destinadas a mercados e feiras, visto que as aves são confinadas e aglomeradas em caixas por longas distâncias e em condições sanitárias inadequadas. O estresse causado pelo transporte e pela permanência por longo período nos locais de abate aumentam a excreção da *Salmonella*, favorecendo as infecções cruzadas entre as aves e contaminação das carcaças.

As pesquisas realizadas em outros países, onde se registra o abate artesanal de frangos em mercados tradicionais de cidades, apontam elevadas taxas de contaminação de *Salmonella* em carne de frango, como no Senegal, com 62,5% (BADA-ALAMBEDI et al., 2006), em Taiwan com 59% (CHEN et al., 2010), no Paquistão com 48,75% (SHAH; KOREJO, 2012). Os autores atribuem a alta ocorrência da bactéria ao baixo nível socioeconômico da população e as precárias condições higiênico sanitária dos abatedouros de aves.

Um fator preponderante para garantir a qualidade sanitária da carne de frango é a higiene. Observou-se que a ocorrência nas amostras de abatedouros (48,88%) foi quase sete vezes maior que a ocorrência nas aves vivas (7,0%). As deficientes medidas higiênico sanitárias aplicadas na área física e dos manipuladores, além das práticas de processamento da carne podem ter contribuído significativamente para disseminar e aumentar a presença da bactéria nas amostras avaliadas.

Apesar da indústria avícola do Brasil ser uma referência mundial em produção e exportação de carne de frango, o abate de aves em pequena escala ainda é uma prática comum nas regiões Norte e Nordeste do país, possibilitando o surgimento de inúmeros

abatedouros artesanais. A avicultura, que por muitos anos desenvolveu-se nas regiões sul e sudeste, tem se expandindo para essas regiões com implantação de sistemas de integração de granjas e surgimento de abatedouros industriais, porém ainda não conseguem suprir às demandas do mercado regional.

Outro aspecto importante é a comercialização de carne de frango recém-abatida. Os consumidores dessas regiões ainda mantêm a preferência por esse tipo de produto, o que incentiva a falta de resfriamento das carcaças após o abate das aves. Barros, Ribeiro, Caselli (2014) avaliaram a presença de *Salmonella* e a temperatura de comercialização de carcaças recém-abatidas, durante 10 semanas em seis estabelecimentos de abate em Feira de Santana, Bahia. A presença da bactéria nas amostras foi de 28,3% e a temperatura das carcaças comercializadas foi de 30°C a 37,7°C. Essa realidade de comercialização apresenta alto risco sanitário, pois permite condições ótimas para multiplicação de *Salmonella* spp., consequentemente aumentando a carga microbiana nas carcaças contaminadas (BRITO et al., 2010).

A sorotipificação das 121 cepas isoladas identificou 15 sorovares de *Salmonella enterica* (Tabela 2). Em 15 isolados, foram identificados como *Salmonella enterica* subspécie *enterica* com as seguintes fórmulas antigênicas: O:4,5 (9/121), O:6,8 (3/121), O:3,10 (2/121) e O:4,5:I,v:- (1/121). Verificou-se que *Salmonella enterica* sorovar Schwarzengrund foi de maior frequência (28,09%) na cadeia de produção de aves, sendo isolado em cinco amostras ambientais, duas de aves e vinte e sete de abatedouros. *Salmonella enterica* sorovar Albany foi o segundo com maior ocorrência (19,83%), sendo isolado em uma amostra de propé e 23 de carcaças de abatedouros. *Salmonella* ser. Enteritidis apareceu em 7,43% dos isolados, destacando-se em sete amostras ambientais e duas amostras de aves. Com igual taxa de isolamento, *Salmonella enterica* sorovar Heidelberg apareceu exclusivamente em nove amostras de abatedouros. Houve isolamento de *Salmonella* ser. Typhimurium em duas amostras de suabe de arrasto das granjas avícolas.

Tabela 2 – Distribuição dos sorovares de *Salmonella* spp. conforme a ocorrência e as fontes de isolamento da cadeia de produção de frangos de corte do Estado do Maranhão, 2013 a 2014

Sorovares de <i>Salmonella enterica</i>	Suabe arrasto	Propé	Fezes	Ração	Suabe cloacal	Carcaça	Isolados	
							n	%
Schwarzengrund	04	01	-	-	02	27	34	28,09
Albany	-	01	-	-	-	23	24	19,83
Enteritidis	03	04	-	-	02	-	09	7,43
Heidelberg	-	-	-	-	-	09	09	7,43
O:4,5*	02	02	-	-	-	05	09	7,43
Panama	-	-	01	-	-	05	06	4,95
Kentuchy	01	-	-	-	01	03	05	4,13
Muenchen	-	01	-	-	01	03	05	4,13
O:6.8*	-	-	-	-	-	03	03	2,47
Hadar	01	-	-	-	-	02	03	2,47
Agona	-	01	-	-	01	01	03	2,47
Typhimurium	02	-	-	-	-	-	02	1,65
Derby	-	-	-	-	-	02	02	1,65
O:3,10*	01	-	-	-	-	01	02	1,65
Orion	-	-	-	-	-	01	01	0,82
Anatum	-	-	-	-	-	01	01	0,82
Stenftenberg	-	-	-	-	-	01	01	0,82
Worthing	-	-	-	-	-	01	01	0,82
O:4,5:I,v:-*	01	-	-	-	-	-	01	0,82
Total	15	10	01	-	07	88	121	100

* Estrutura flagelar não detectável

Verificou-se que *Salmonella* ser. Enteritidis apresentou maior ocorrência em amostras ambientais e de aves, não sendo isolado em amostras de abatedouros (Tabela 2). Cardoso et al. (2013) e Scur et al. (2014) verificaram esse sorovar como mais prevalente em amostras do ambiente de criação de frangos nas regiões sudeste e sul do país, respectivamente. Sabe-se que *Salmonella* ser. Enteritidis é descrito como o principal sorovar isolado em lotes de frangos, carnes de aves e ovos comerciais na última década no Brasil (BONI; CARRIJO; FASCINA, 2011; BORSOI et al., 2005; BRASIL, 2012; CARDOSO et al., 2015; DUARTE et al., 2009; MEDEIROS et al., 2011; MINHARRO et al., 2015; TESSARI et al., 2008). Esse sorovar juntamente com o *Salmonella* ser. Typhimurium têm destacada importância para saúde pública, por apresentarem alta patogenicidade para os seres humanos, sendo os principais responsáveis por surtos de origem alimentar em todo mundo (RICKE; DUNKLEY; DURANT, 2013). Por estarem associados aos produtos de origem avícola, houve no país a implementação de programas de controle específicos para esses sorovares, com monitoramento sanitário dos plantéis e incentivo a vacinação contra *S. Enteritidis* como forma de reduzir a transmissão vertical do agente. Em alguns estados brasileiros, houve uma redução ou ausência de *Salmonella* ser. Enteritidis em isolados

originados de propriedades avícolas (MENDONÇA, 2011; RAVAGNANI et al, 2012; VOSS-RECH et al., 2015), sugerindo melhorias no controle sanitário desse sorovar em incubatórios e granjas.

A presença dos *Salmonella* ser. Enteritidis e *Salmonella* ser. Typhimurium em amostras de granjas e de aves indicam falhas na execução de programas sanitários, pois o controle desses agentes é considerado fundamental para a certificação sanitária através do Plano Nacional de Sanidade Avícola (PNSA) (BRASIL, 2003). De acordo com Silva e Duarte (2002), uma realidade que dificulta o controle e erradicação desses sorovares em todo país é o pouco ou nenhum impacto na produtividade das aves somada com a pouca consciência de que a erradicação desses patógenos das granjas causará redução nos surtos em seres humanos.

Em nosso estudo, *Salmonella* ser. Schwarzengrund foi mais o prevalente em amostras de carcaças de frango, sendo isolado em 27 das 180 amostras (Tabela 2). Esse sorovar foi também o mais predominante na cadeia produtiva de frangos (28,81%), ocorrendo em amostras de suabe de arrasto, propé e suabe cloacal. Esses resultados corroboram com os dados de Moraes et al. (2014) que encontraram o mesmo sorovar como o mais prevalente (28,3%) na cadeia produtiva de frangos do Estado de Goiás. Taxas maiores de isolamento foram encontrados por Boni, Carrijo, Fascina (2011), que verificaram a ocorrência de 37,93% na cadeia de produção de Mato Grosso do Sul, e por Chen et al. (2010) que constataram aprevalência de 33,5% do sorovar em carne de frango em mercados públicos de Taiwan.

O dinamismo dos sorovares de salmonelas paratifóides de origem aviária em um país pode ser influenciado pelas características regionais como clima e estações do ano (VALCHERA et al., 2011; YANG et al., 2013), pelos fatores socioeconômicos (SHAH e KOREJO, 2012), pela importação ou exportação de produtos alimentares e de animais (AARESTRUP et al., 2007) e principalmente pela implementação de programas sanitários (FOLEY et al., 2011). A substituição gradual de dominância de *Salmonella* ser. Enteritidis por outros sorovares de *Salmonella* paratifóides na produção de frangos e em abatedouros no Brasil tem sido reportado (MUNIZ, 2012; VOSS-RECH et al., 2014), como no presente estudo, no qual a *Salmonella* ser. Schwarzengrund apresentou maior predominância ao longo da cadeia produtiva de frangos. O aumento da imunidade das aves causada pela exposição ou por vacinações específicas contra a *S. Enteritidis* ou contra sorovares antígenicamente similares tem permitido o declínio desse sorovar e ocupação de outros sorovares paratifóides em seu nicho ecológico (FOLEY et al., 2011).

Nos últimos dez anos, *Salmonella* ser. Schwarzengrund é descrito como um dos mais frequentes sorovares de *Salmonella* spp. isolados da produção de frangos de corte e

em produtos avícolas na Ásia, na Europa e Estados Unidos (AARESTRUP et al., 2007; ANDINO; HANNING, 2015; ASAI et al., 2006; CHEN et al., 2010; UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURA - USDA, 2013). De forma semelhante, esse sorovar tem sido registrado na cadeia produtiva de frangos no Brasil e com distribuição em todas as regiões do país (MENDONÇA, 2011; MOREIRA et al., 2008; PANDINI et al., 2015; TIROLI e COSTA, 2006; VOSS-RECH et al., 2015). Apesar da *Salmonella* ser. Schwarzengrund ser uma causa menos comum em salmoneloses humanas, com maior incidência de casos no continente asiático (CHEN et al., 2010) e nos Estados Unidos (CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION - CDC, 2007), enfatiza-se que a ocorrência deste sorovar na cadeia produtiva de aves tem aumentado, apresentando importância no cenário da avicultura por se tratar de um sorovar emergente que causa impacto para saúde pública.

Destaca-se *Salmonella* ser. Albany como o segundo sorovar com maior ocorrência, sendo isolado quase exclusivamente em carcaças de frangos. Brito et al. (2010) também detectaram esse sorovar em 12,5% das carcaças de frango recém abatidas em mercados no Estado do Maranhão. Apesar de ser considerado um sorovar raro e frequentemente associado com carne de frango em outros países (CHEN et al., 2010; EUGROUND et al., 2015; THAI et al., 2012; ZAIDI et al., 2006), no Brasil, a presença *Salmonella* ser. Albany em carcaças de frango é comumente registrada em abatedouros industriais (FUZIHARA; FERNANDES; FRANCO, 2000; MOREIRA et al., 2008; PANZENHAGEN et al., 2016; STOPPA, 2011) e em amostras de mercados tradicionais (TIROLI; COSTA, 2006). As aves domésticas e os animais silvestres são referenciados como principais reservatórios desse sorovar (SILVA-HIDALGO et al., 2013). A contaminação encontrada em carcaças por *Salmonella* ser. Albany pode representar risco para os consumidores, visto que é um agente causador de diarreia de origem alimentar em seres humanos (ZAIDI et al., 2006).

Outro sorovar de importância encontrado nas carcaças avaliadas foi *Salmonella* ser. Heidelberg. Esse agente é a terceiro sorovar causador de salmoneloses humanas nos Estados Unidos (CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION - CDC, 2013) e tem crescido seu isolamento em produtos de origem avícola (COLLA et al., 2012; MEDEIROS et al., 2011; UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURA, 2014; VOSS-RECH et al., 2015). A presença de *Salmonella* ser. Heidelberg em alimentos

comercializados torna-se preocupante, pois esse sorovar é capaz de causar infecções invasivas com maior gravidade em relação aos outros sorovares paratíficos (FOLEY et al., 2011).

As salmonelas paratífoides são importantes patógenos de origem alimentar que comumente são veiculados por produtos de origem avícola. O monitoramento desse agente na cadeia produtiva de frangos é fundamental para promoção da saúde pública, visto que é um dos principais agentes etiológicos de doenças transmitidas por alimentos no mundo.

Conclusão

Os resultados encontrados confirmam a presença de salmonelas paratíficas na cadeia de produção de frangos de corte do Estado do Maranhão. Há necessidade de implantação do controle sanitário em granjas avícolas da região e o abate artesanal de frangos pode aumentar a disseminação de *Salmonella* spp. para as carcaças, representando risco para saúde pública.

Agradecimentos

Agradecemos a Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Científico do Maranhão (FAPEMA), a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão (IFMA) pelo financiamento da pesquisa.

REFERÊNCIAS

AARESTRUP, F. M.; HENDRIKSEN, R. S.; LOCKETT, J.; GAY, K.; TEATES, K.; McDERMOTT, P. F.; WHITE, D. G.; HASMAN, H.; SORENSEN, G.; BANGTRAKULNONTH, A.; PORNREONGWONG, S.; PULSRIKARN, C.; ANGULO, F. J.; GERNER-SMIDT, P. Internacional spread of multidrug-resistant *Salmonella* Schwarzengrund in food products. **Emerging Infectious Diseases**, v.13, n.3, mai., 2007.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL - ABPA. **Relatório Anual de 2015**. Disponível em: <http://www.brazilianchicken.com.br/home/publicacoes> Acesso em: 02 jan. 2016.

ANDINO, A.; HANNING, I. *Salmonella enterica*: Survival, Colonization, and Virulence Differences among Serovars. **The Scientific World Journal**, vol. 2015, Article ID 520179, 16 p. 2015.

ANDREATTI FILHO, R. L.; LIMA, E. T.; MENCONI, A.; ROCHA, T. S.; GONÇALVES, G. A. M. Pesquisa de *Salmonella* spp. em suabes de arrasto provenientes de granjas avícolas. **Veterinária e Zootecnia**, v.16, n.1, p.190-194, 2009.

ARSENAULT, J.; LETELLIER, A.; QUESSY, S.; BOULIANNE, M. Prevalence and risk factors for *Salmonella* and *Campylobacter* spp. carcass contamination in broiler chickens slaughtered in Quebec, Canada. **Journal of Food Protection**, v.70, n.8, p.1820-1828, ago., 2007.

ASAI, T.; MURAKAMI, K.; OZAWA, M.; KOIKE, R.; ISHIKAWA, H. Relationships between multidrug-resistant *Salmonella enterica* Serovar Schwarzengrund and both broiler chickens and retail chickens and retail chicken meats in Japan. **Japanese journal of infectious diseases**, v.62, n.3, p.198-2000, 2009.

BADA-ALAMBEDJI, R.; FOFANA, A.; SEYDI, M.; AKAKPO, A.J. Antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from poultry carcasses in Dakar (Senegal). **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 37, n.4, p.510-515, 2006.

BARROS, L.S.S.; RIBEIRO, J.G.N.; CASELLI, J.B. *Salmonella* spp. Lignieres 1900 (Enterobacteriales: Enterobacteriaceae) in informally sold broilers. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*, v.08, n.4, p.1-21, 2014.

BERCHIERI JÚNIOR, A.; FREITAS NETO, O. C. Salmoneloses. In: _____. BERCHIERI JÚNIOR, A.; SILVA, E. N.; DI FÁBIO, J.; SESTI, L.; ZUANAZE, M. A. F. **Doença das Aves**. Campinas: FACTA, 2009, p.435-454.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Programa Nacional De Monitoramento Da Prevalência e da Resistência Bacteriana Em Frango - PREBAF. **Relatório de Pesquisa em Vigilância Sanitária de Alimentos. Monitoramento da prevalência e do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos em enterococos e salmonelas isolados de carcaças de frango congeladas comercializadas no Brasil**. Brasília, 2012. 171p. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Alimentos/Assuntos+de+Interesse/Monitoramento+e+Pesquisa/PREBAF> Acesso em: 10 abr. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 78, de 3 de novembro de 2003. Normas Técnicas para Controle e Certificação de Núcleos e Estabelecimentos Avícolas como Livres de *Salmonella Gallinarum* e de *Salmonella Pullorum* e Livres ou Controlados para *Salmonella Enteritidis* e para *Salmonella Typhimurium*. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 05. nov. 2003. Seção 1, p. 3.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Instrução Normativa Nº 10, de 11 de abril de 2013. Programa de gestão de risco diferenciado, baseado em vigilância epidemiológica e adoção de vacinas, para os estabelecimentos avícolas considerados de maior susceptibilidade à introdução e disseminação de agentes patogênicos no plantel avícola nacional e para estabelecimentos avícolas que exerçam atividades que necessitam de maior rigor sanitário. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 12 abr. 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Portaria DSA nº. 8, de 23 de janeiro de 1995. Método Analítico de Carcaças de Aves e Pesquisa de *Salmonella*. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 10 out. 1995. Seção 1, p. 10.

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

BONI, H. F. K.; CARRIJO, A. S.; FASCINA, V. B. Ocorrência de *Salmonella* spp. em aviários e abatedouro de frangos de corte na região central de Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.12, n.1, p.84-95, 2011.

BORSOI, A. **Ocorrência, contagem e resistência antimicrobiana de *Salmonella* isoladas de carcaças de frangos resfriadas e pesquisa de *Salmonella* em galpões de frangos de corte**. 2005. 78p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

CARDOSO, A. L. S. P.; KANASHIRO, A. M. I.; STOPPA, G. F. Z.; CASTRO, A. G. M.; LUCIANO, R. L.; TESSARI, E. N. C. Prevalência de *Salmonella* Enteritidis isoladas de suabes de arrasto em granjas de frangos de corte. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. Ano XI, n.20, janeiro, 2013.

CARDOSO, A. L. S. P.; KANASHIRO, A. M. I.; STOPPA, G. F. Z.; CASTRO, A. G. M. DE; LUCIANO, R. L. Ocorrência de *Salmonella* spp. em carcaças de frango provenientes de abatedouros do estado de São Paulo, Brasil, no período de 2000 a 2010. **Revista científica de Medicina Veterinária**, Ano XIII, n. 24, jan., 2015.

CARDOSO, A.L.S.P.; TESSARI, E.N.C. Salmonela na segurança dos alimentos. **Biológico**, São Paulo, v.70, n.1, p.11-13, jan./jun., 2008.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION - CDC. **Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks United States, 2013: Annual Report**. 2013. Disponível em: <http://www.cdc.gov/foodsafety/fdoss/data/annual-summaries/> Acesso em: 24 de abril de 2016.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION - CDC. **Estimates of Foodborne Illness in the United State, 2011**. Disponível em: <http://www.cdc.gov/foodborneburden/2011-foodborne-estimates.html>. Acesso: 10 de novembro de 2015.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION - CDC. ***Salmonella* Schwarzengrund Outbreak Investigation, August 2007**. Disponível em: <http://www.cdc.gov/Salmonella/schwarzengrund.html>. Acesso: 21 de abril de 2016.

CHEN, M. H.; WANG, S. W.; HWANG, W. Z.; TSAI, S. J.; HSIH, Y. C.; CHIOU, C. S.; TSEN, H. Y. Contamination of *Salmonella* Schwarzengrund cells in chicken meat from traditional marketplaces in Taiwan and comparison of their antibiograms with those of the human isolates. **Poultry Science**, v. 89, n.2, p. 359-365, 2010.

CHIU, L.H.; CHIU, C.H.; HORN, Y.M.; CHIOU, C.S.; LEE, C.Y.; YEH, C.M.; YU, C.Y.; WU, C.P.; CHANG, C.C.; CHU, C. Characterization of 13 multi-drug resistant *Salmonella* serovars from different broiler chickens associated with those of human isolates. **BMC Microbiology**, v.10, v.86, p.86, 2010.

COLLA, F.L.; RODRIGUES, L.B.; BORSOI, A.; DICKEL, E.L.; NASCIMENTO, V.P.; SANTOS, L.R. Isolamento de *Salmonella* Heidelberg em diferentes pontos da tecnologia de abate de frangos de corte. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.79, n.4, p.603-606, out./dez., 2012.

COX, N. A.; MERCURI, A. J.; TANNER, D. A.; CARSON, M. O.; THOMSON, J. E.; BAILEY, J. S. Effectiveness of sampling methods for *Salmonella* detection on processed broilers. **Journal of Food Protection**, v. 41, p. 341-343, 1978.

DUARTE, D. A. M.; RIBEIRO, A. R. R.; VASCONCELOS, A. M. M.; SANTOS, S. B.; SILVA, J. V. D.; ANDRADE, P. L. A.; FALCÃO, L. S. P. DA C. DE A. Occurrence of *Salmonella* spp. in broiler chicken carcasses and their susceptibility to antimicrobial agents. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.40, p.569-573, 2009.

ELGROUD, R.; GRANIER, S. A.; MARAULT, M.; KEROUANTON, A.; LEZZAR, A.; BOUZITOUNA-BENTCHOUALA, C.; BRISABOIS, A.; MILLEMANN, Y. Contribution of Avian *Salmonella enterica* Isolates to Human Salmonellosis Cases in Constantine (Algeria). **Biomed Research Internacional**, v. 2015, n. 352029, p.8, 2015.

FOLEY, S. L, NAYAK, R.; HANNING, I.B.; RICKE, S.C. Population dynamics of *Salmonella enterica* serotypes in commercial egg and poultry production. **Applied and Environmental Microbiology**, v.77, n.13, p. 4273-4279, 2011.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS – FAO **Agriculture Outlook 2015**. 20 ed. Paris: OECD-FAO Publishing, 148p. Disponível em: www.fao.org/3/a-i4738e.pdf Acesso em: 10 nov. 2015.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS/ WORLD HEALTH ORGANIZATION – FAO/WHO. **Salmonella and Campylobacter in chicken meat: Meeting report**. Microbiological Risk Assessment, Switzerland:WHO PRESS, n.19, 2009, 56p. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/012/i1133e/i1133e00.htm> Acesso em: 10 nov.2015.

FUZHARA, T. O.; FERNANDES, S. A.; FRANCO, B. D. Prevalence and dissemination of *Salmonella* serotypes along the slaughtering process in Brazilian small poultry slaughterhouses. **Journal of Food Protection**, v.63, n.12, p.1749-1753, 2000.

HUE, O.; LE BOUQUIN, S.; LALANDE, F.; ALLAIN, V.; ROUXEL, S.; PETETIN, I.; QUESNE, S.; LAISNEY, M.; GLOAGUEN, P.; PICHEROT, M.; SALVAT, G.; BOUGEARD, S.; CHEMALY, M. Prevalence of *Salmonella* spp. on broiler chicken carcasses and risk factors at the slaughterhouse in France in 2008. **Food Control**. v. 22, n. 8, ago., p. 1158–1164, 2011.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

LUNDGREN, P. U.; SILVA, J. A.; MACIEL, J. F.; FERNANDES, T. M. Perfil da qualidade higiênico-sanitária da carne bovina comercializada em feiras livres e mercados públicos de João Pessoa – PB, BRASIL. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v.20, n.1, p. 113-119, 2009.

MALDONADO, A. **Ocorrência de *Salmonella* spp. em carcaças e miúdos de frangos abatidos em feiras livres na zona oeste da cidade de São Paulo**. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia experimental aplicada às zoonoses) - Universidade de São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária, São Paulo, Brasil, 2008.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO/ ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE - MAPA/OPAS. Saúde Pública

Veterinária – Centro Pan-Americano de Febre Aftosa. **Manual veterinário para colheita e envio de amostras**. 1ed. Rio de Janeiro: PANAFTOSA – OPAS/OMS, 2010. 218p.

MEDEIROS, M. A. N.; OLIVEIRA, D. C. N.; RODRIGUES, D. P.; FREITAS, D. R. C. Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* in chicken carcasses at retail in 15 Brazilian cities. **Revista Panamericana de Salud Publica**, v.30, n.6, p.555–60, 2011.

MENDONÇA, E.P. **Disseminação de *Salmonella* sp na cadeia produtiva de frango de corte**. 2011. 70p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinária) – Universidade Federal de Uberlândia: Faculdade de Medicina Veterinária, Uberlândia, 2011.

MINHARRO, S.; NASCIMENTO, C. A.; GALLETI, J. P.; MERISSE, T. J.; FEITOSA, A. C. F.; SANTOS, H. D.; DIAS, F. E. F.; SANTANA, E. S.; BALDANI, C. D.; ANDRADE, M. A. Antimicrobial susceptibility of *Salmonella* serovars isolated from edible offal and carcasses of slaughtered poultry in the state of Tocantins, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.36, n.4, p.2661-2670, jul./ago., 2015.

MORAES, D.M.C.; ANDRADE, M.A.; REZENDE, C.S.M.; BARNABÉ, A.C.DE S.; JAYME, V. DE S.; NUNES, I.A. BAPTISTA, D. DE A. Fontes de infecção e perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos de *Salmonella* sp. isoladas no fluxo de produção de frangos de corte. **Arquivos Instituto Biológico**, v.81, n.3, p. 195-201, 2014.

MOREIRA, G.N.; REZENDE, C.S.M.; CARVALHO, R.N.; MESQUITA, S.Q.P.; OLIVEIRA, A.N.; ARRUDA, M.L.T. Ocorrência de *Salmonella* sp. em carcaças de frangos abatidos e comercializados em municípios do estado de Goiás. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.67, n.2, p.126-130, 2008.

MOURA FILHO, L.G.M.; BEZERRA, S.S.; BARROS, G.C.; MELO, H.M.G.; MENDES, E.S. Perfil microbiológico da carne de frangos abatidos artesanalmente e na indústria, comercializados na grande Recife-PE. **Medicina Veterinária**, Recife, v.4, n.1, p.12-17, jan/mar, 2010.

MUNIZ, E.C. Atualidades no estudo das salmoneloses aviárias. In: SIMPÓSIO SUL DE AVICULTURA, 13, 2012, Chapecó. **Anais....**Chapecó: Embrapa Suínos e Aves, 2012, p.13-26.

OLIVEIRA, W.F.; CARDOSO, W.M.; ROMÃO, J.M.; TEIXEIRA, R.S.C.; CÂMARA, S.R.; SIQUEIRA, A.A.; MARQUES, L.C.L. Initial identification and sensibility to antimicrobial agents of *Salmonella* sp. isolated from poultry products in the State of Ceara, Brazil. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.8, n.3, jul.-set., p.193-199, 2006.

PANDINI, J.A.; PINTO, F.G.S.; MULLER, J.M.; WEBER, L.D.; MOURA, A C.de. Ocorrência e perfil de resistência antimicrobiana de sorotipos de *Salmonella* spp. isolados de aviários do Paraná, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.82, p.1-6, 2015.

PANZENHAGEN, P.H.N.; AGUIAR, W.S.; FRASÃO, B. DA S.; PEREIRA, V.L.A.; ABREU, D.L.C.; RODRIGUES, D.P.; NASCIMENTO, E. Prevalence and fluoroquinolones resistance of *Campylobacter* and *Salmonella* isolates from poultry carcasses in Rio de Janeiro Brazil. **Food Control**, v.61, p.243-247, 2016.

RAVAGNANI, L. K.; AGOSTINIS, R. O.; OTUTUMI, L. K.; LIMA, E. T.; FERNANDES, J. I. M.; MARTINS, L. A. Pesquisa de *Salmonella* spp. em frangos de corte criados em

galpões climatizados de uma integração na região Oeste do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 6, p. 2327-2336, nov./dez. 2012.

REZENDE, C.S.M.; MESQUITA, A.J.; ANDRADE, M.A.; LINHARES, G.F.C.; MESQUITA, A.Q.; MINAFRA, C.S. Sorovares de *Salmonella* isolados de carcaças de frangos de corte abatidos no Estado de Goiás, Brasil, e perfil de resistência a antimicrobianos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v.100, n.555-556, p.199-203, 2005.

RIGBY, C. E.; PETTIT, A. H.; BENTLEY, J. L.; SPENCER, M. O.; LIOR, H. The relationships of *Salmonellae* from infected broiler flocks, transport crates or processing plants to contamination of eviscerated carcasses. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, v.46, n.3, p. 272-278, jul. 1982.

RICKE, S.C.; DUNKLEY, C.S.; DURANT, J.A. A review on development of novel strategies for controlling *Salmonella* Enteritidis colonization in laying hens: Fiber-based molt diets. **Poultry Science**, v.92, n.2, fev., p. 502–525, 2013.

RIVIERA-PEREZ, W.; BÁRQUIO-CALVO, E.; ZAMORA-SANABRIA, R. *Salmonella* contamination risk points in broiler carcasses during slaughter line processing. **Journal of Food Protection**, v.77, n.12, p. 2031-2034, 2014.

SANTIN, E. Salmoneloses–aumento da transmissão vertical e falhas de manejo de reprodutoras. In: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA, 15., 2014, Chapecó. **Anais...** Chapecó: Embrapa Aves e Suínos, 2014, p.140-157.

SHAH, A.H.; KOREJO, N.A. Antimicrobial resistance profile of *Salmonella* serovars isolated from chicken meat. **Turkshi Journal Veterinary Animal Sciences**, v. 2, p.40-46, 2012.

SILVA, E.N., DUARTE, A. *Salmonella* Enteritidis em Aves: Retrospectiva no Brasil. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.4, n.2, mai.-ago., p.085 – 100, 2002.

SILVA-HIDALGO, G.; LÓPEZ-MORENO, H.S.; ORTIZ-NAVARETE, F.O.; ARANDA-ALPUCHE, C.; RENDÓN-MALDONADO, J.G.; LÓPEZ-VALENZUELA, J.A.; LÓPEZ-VALENZUELA, M.; JUAREZ-BARRANCO, F. Prevalence of *Salmonella enterica* serovar Albany in captive zoo wild animals in the Culiacán Zoo in Mexico. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v.44, n.1, p. 8–14, 2013.

STOPPA, G.F.Z. **Pesquisa de *Salmonella* spp. em abatedouros avícolas**, 2011. 92p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) - Universidade Estadual Paulista: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2011.

THAI, T.H.; HIRAI, T.; LAN, N.T.; YAMAGUCHI, R. Antibiotic resistance profiles of *Salmonella* serovars isolated from retail pork and chicken meat in North Vietnam. **International Journal of Food Microbiology**, v.156, n.2, p.147–151, 2012.

TESSARI, E.N.C.; CARDOSO, A.L.S.P.; KANASHIRO, A.M.I.; STOPPA, G.F.Z.; LUCIANO, R.L.; CASTRO, G.M.DE. Ocorrência de *Salmonella* spp. em carcaças de frangos industrialmente processadas, procedentes de explorações industriais do Estado de São Paulo, Brasil. **Ciência Rural**, v.38, n.9, dez, 2008.

TIROLI, I.C.C.; COSTA, C.A. de. Ocorrência de *Salmonella* spp. em carcaças de frangos recém-abatidos em feiras e mercados públicos da cidade de Manaus-AM. **Acta Amazônica**, v.36, n.2, p.205-208, 2006.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE – USDA. Food Safety and Inspection Service (FSIS). **Serotypes Profile of *Salmonella* Isolates from Meat and Poultry Products January 1998 through December 2013**. Disponível em: <http://www.fsis.usda.gov>. Acesso em: 24 abr.2016.

UNITED STATES DEPARTAMENT OF AGRICULTURA - USDA. **Trade of all meats to expand in 2016**. Livestock and Poultry: World Markets and Trade, abril, 2016. Disponível em:

VALCHEVA, R.; BELOPOPSKA, P.; MATEVA, G.; HRISTOVA, T.; DASKALOV, H. Distribution and serological typing of *Salmonella* spp. isolates from broiler carcasses in Bulgaria. **Bulgarian Journal of Veterinary Medicine**, v. 14, n.1, 31–38, 2011.

VOLKOVA, V.V.; BAILEY, R.H.; WILLS, R.W. *Salmonella* in broiler litter and properties of soil at farm location. **Plos One**, v.4, n.7, 2009.

VOLKOVA, V.V.; BAILEY, R.H.; RYBOLT, M.L.; DAZO-GALARNEAU K.; HUBBARD, S.A.; MAGEE, D.; BYRD, J.A.; WILL, R.W. Interrelationships of *Salmonella* status of flock and grow-out environment at sequential segments in broiler production and processing. **Zoonoses and Public Health**, v.57, n.7-8, p.463-475, 2010.

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 Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.2, p.326-330, 2009.

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

YANG, B.; QIAO, L.; ZHANG, X.; CUI, Y.; XIA, X.; CUI, S.; WANG, X.; MENG, X.; GE, W.; SHI, X.; WANG, D.; MENG, J. Serotyping, antimicrobial susceptibility, pulsed field gel electrophoresis analysis of *Salmonella* isolates from retail foods in Henan Province, China. **Food Control**, v.32, n.1, p.228-235, 2013.

ZAIDI, M. B., MCDERMOTT, P. F.; FEDORKA-CRAY, P.; LEON, V.; CANCHE, C.; HUBERT, S.K.; ABBOTT, J.; LEO' N, M.; ZHAO, S.; HEADRICK, M.; TOLLEFSON, L. Nontyphoidal *Salmonella* from human clinical cases, asymptomatic children, and raw retail meats in Yucatan, Mexico. **Clinical Infection Disease**, v.42, n.1, p.21–28, 2006.

5 ARTIGO B

SOROVARES DE *Salmonella enterica* MULTIRRESISTENTES A ANTIMICROBIANOS ISOLADOS DA PRODUÇÃO DE FRANGOS NO ESTADO DO MARANHÃO, BRASIL

CHARACTERIZATION OF MULTIDRUG RESISTANT *Salmonella enterica* SEROVARS ISOLATES FROM POULTRY PRODUCTION OF MARANHÃO STATE, BRAZIL

RESUMO

As aves e os produtos de origem aviária são considerados como fontes de contaminação predominantes de *Salmonella enterica* e importantes reservatórios de bactérias com resistência antimicrobiana. O presente estudo objetivou identificar *Salmonella* com fenótipos de multirresistência a drogas (MDR) e investigar os genes que codificam resistência antimicrobiana em isolados de diferentes fontes da cadeia produtiva de frangos de corte, do Estado Maranhão, Brasil. Um total de 121 cepas de *Salmonella enterica* de sorovares diferentes foram avaliadas quanto ao teste de suscetibilidade aos antimicrobianos e quanto a detecção de genes de resistência pela técnica de PCR. Foram encontradas resistência antimicrobiana em 96 (79,3%) dos isolados de *Salmonella*, sendo que 73 (60,3%) apresentaram fenótipos MDR. Os isolados apresentaram resistência aos grupos das sulfonamidas (58,7%), trimetoprim (48,8%), tetraciclina (45,4%), ácido nalidixico (44,6%), amoxicilina (26,4%), ampicilina (26,4%), cefazolina (22,3%), estreptomicina (21,5%), nitrofurantoína (2,5%), imipenem (1,6%), cloranfenicol (1,6%) e gentamicina (0,8%). Não foi encontrada resistência a norfloxacin, ciprofloxacina e fluorfenicol. *Salmonella enterica* sorovares Schwarzengrund (n=24/ 70,5%), Albany (n=24/ 66,5%) e Enteritidis (n=6/ 66,5%) apresentaram os maiores índices de fenótipos com resistência a duas ou mais classes de antimicrobianos simultaneamente. Em 50 isolados de *S. enterica* dos sorovares Schwarzengrund, Albany, Enteritidis, Heidelberg e Typhimurium foram detectados os genes de resistência *bla*CTX-M (n=11), *bla*CTX-M2 (n=6) e *bla*SHV (n=3), *sul*1 (n=27), *sul*2 (n=5), *tet*A (n=13), *tet*B (n=28), *tet*C (n=22), *tet*E (n=4), *dfr*A12 (n=13) e *dfr*A1 (n=7). Os resultados evidenciaram a elevada ocorrência de fenótipos de *S. enterica* com resistência múltipla a antimicrobianos convencionais, na cadeia produtiva de aves destinadas ao consumo humano.

Palavras chave: *Salmonella* spp. Antimicrobianos. Genes de resistência. Frangos. Nordeste.

ABSTRACT

The poultry and poultry products were considered as predominant sources of *Salmonella enterica* and important reservoirs of antimicrobial resistance bacteria. This study aimed to identify phenotypes multidrug resistance to drugs (MDR) *Salmonella* and investigate genes encoding antibiotic resistance in isolates from different sources of the production chain of broilers, Maranhão state, Northeast Brazil. In total, 121 *Salmonella enterica* strains of different serovars, were evaluated for antimicrobial susceptibility testing and resistance genes detection by PCR technique. Antimicrobial resistance were found in 81% *Salmonella* isolates and 56.19% had multiple drugs resistance (MDR). The isolates were resistant to sulfanamidas (58.7%), trimethoprim (48.8%), tetracycline (45.4%), nalidixic acid (44.6%), amoxicillin

(26.4%), ampicillin (26.4%), cefazolin (22.3%), streptomycin (21.5%), nitrofurantoin (2.5%), imipenem (1.6%), chloramphenicol (1.6%) and gentamicin (0.8%). There was not antimicrobial resistance to norfloxacin, ciprofloxacin, and florfenicol. *Salmonella enterica* serovars Schwarzengrund (n = 24 / 70.5%), Albany (n = 24 / 66.5%) and Enteritidis (n = 6 / 66.5%) had the highest resistant rates to two or more antibiotics class simultaneously. In 50 samples of *S. enterica* serovars Schwarzengrund, Albany, Enteritidis, Heidelberg and Typhimurium were detected the resistance genes: *bla*CTX M (n = 11), *bla*CTX-M2 (n = 6) and *bla*SHV (n = 3), *sul1* (n = 27), *sul2* (n = 5), *tetA* (n = 13), *tetB* (n = 28), *tetC* (n = 22), *tetE* (n=4), *dfrA12* (n = 13) and *dfrA1* (n = 7). The results showed a high incidence of multiple resistance *Salmonella enterica* phenotypes to conventional antibiotics in the poultry production intended for human consumption.

Key words: *Salmonella* spp. Antimicrobials. Resistance genes. Poultry. Northeast Brazil.

INTRODUÇÃO

A bactéria *Salmonella* é referenciada como a principal causa de doenças diarreicas de origem alimentar em todo mundo (HUR; JAWALE; LEE, 2012; UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA, 2013; PUBLIC HEALTH ENGLAND, 2014). De acordo com a Organização Mundial da Saúde, a incidência de salmoneloses transmitidas pela cadeia alimentar do homem tem se elevado de forma significativa, com uma estimativa de 94 milhões de casos, resultando em 155 mil mortes a cada ano (WHO, 2014). O uso de antimicrobianos é uma medida crucial no tratamento de doentes em casos graves ou com infecções sistêmicas. Porém a efetividade terapêutica pode ser dificultada pelo aumento crescente e disseminação de *Salmonella* com resistência múltipla a drogas (MDR), incluindo agentes antimicrobianos de importância clínica (COSBY et al., 2015; HUR; JAWALE; LEE, 2012).

As infecções causadas por *Salmonella* MDR são geralmente transmitidas através de alimentos, com os animais de produção servindo como reservatórios e os produtos de origem animal como vias de transmissão de doenças humanas (GLENN et al., 2013). Nesse contexto, as aves, o ambiente de criação e os produtos de origem aviária destacam-se como fontes predominantes de *Salmonella enterica* e notáveis reservatórios de bactérias com resistência antimicrobiana (WANG et al., 2015). O uso extensivo de antimicrobianos na profilaxia de doenças e como promotores de crescimento na avicultura moderna é apontado como uma das razões para o aumento da prevalência de bactérias com fenótipos MDR (MEDEIROS et al., 2011; SILVA; HOLLENBACH, 2010). Em vários países, tem sido registrado fenótipos MDR causadores de surtos de salmonelose humana em *Salmonella enterica* sorovar Enteritidis, Typhimurium, Heidelberg e Schwarzengrund, isolados de fontes

da cadeia produtiva de frangos de corte (BIFFI et al., 2014; KIM et al., 2012; GLENN et al., 2015; LU et al., 2014; THAI et al., 2012; VOSS-RECH et al., 2015).

A resistência antimicrobiana em bactérias causadoras de zoonoses como *Salmonella* constitui-se um sério problema de saúde pública. Estudos apontam evidências de que o uso de antimicrobianos em animais de produção contribui para a seleção de linhagens bacterianas resistentes aos quais podem se transferidas ao homem através da cadeia alimentar (MARSHALL e LEVY, 2011). Essa assertiva incentiva o debate referente aos impactos que a utilização de antimicrobianos na produção animal e a consequente seleção de isolados resistentes pode exercer na saúde humana (MATIELLO et al., 2015).

O uso crescente e o surgimento de resistência aos antibióticos leva a um ciclo contínuo de uso, desenvolvimento de resistência bacteriana, eficácia reduzida e constante necessidade de novas drogas. O surgimento de novos agentes antimicrobianos pode não acompanhar esse crescimento dramático de resistência antimicrobiana em bactérias com risco zoonótico, tornando-se um grave problema para clínica médica humana e veterinária (Mc DERMOTT; WALKER; WHITE, 2003). Com a iminência dessa problemática, instituições internacionais como Organização Mundial da Saúde (OMS/WHO) e órgãos nacionais de saúde (Estados Unidos/NARMS; Canadá/CIPARS e Brasil/MAPA) realizam o monitoramento da resistência antimicrobiana de bactérias causadoras de zoonoses como *Salmonella*, avaliando não somente isolados de fontes humanas, mas da cadeia produtiva de alimentos.

A disseminação de fenótipos de *Salmonella* MDR acontece de forma rápida em diferentes sorovares e em diferentes localidades do mundo, e está associada principalmente com a troca e a incorporação de inúmeros genes que codificam resistência antimicrobiana, por conjugação de elementos genéticos móveis (ABATCHA et al., 2014; COSBY et al., 2015). Em um habitat compartilhado, esses genes são facilmente mobilizados entre *Salmonella* e outras bactérias da família *Enterobacteriaceae* (DAHSHAN, 2010; POUGET et al., 2013). Nesse contexto, *Salmonella* spp. pode desempenhar um importante papel como bactéria receptora ou doadora de genes de resistência, contribuindo para a disseminação desses elementos na cadeia alimentar do ser humano.

Assim, o presente estudo objetivou determinar o perfil de resistência de *Salmonella* aos antimicrobianos, identificar os fenótipos de resistência múltipla a drogas (MDR), e investigar os determinantes genéticos de resistência em isolados de diferentes fontes da cadeia produtiva de frangos de corte, do Estado Maranhão, região Nordeste do Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Isolados bacterianos

Entre 2013 e 2014, foram isoladas um total de 121 cepas de *Salmonella enterica* da cadeia de produção de frangos da Mesorregião Norte do Estado do Maranhão, nos quais 26 foram de amostras ambientais (suabe de arrasto, propé e fezes cecais), 7 amostras de aves (suabe cloacal) e 88 amostras de abatedouros (carcaças de frango). Os isolados foram identificados no Laboratório de Microbiologia do Instituto Federal de Educação do Maranhão (IFMA), seguindo metodologia recomendada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil (BRASIL, 1995) e realizada a sorotipificação pelo Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, Brasil. Para as análises, os isolados foram cultivados em caldo tripton de soja (TSB) (Newprow®) à 37°C por 24 horas e então conservados com glicerol 20% a -20°C.

Teste de suscetibilidade antimicrobiana

Os perfis de suscetibilidade antimicrobiana dos isolados de *Salmonella* foram determinados pelo método de Difusão em Disco (BAUER; KIRB; SHERRIN, 1966), utilizando protocolo recomendado pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2008 e 2013). Utilizou-se discos de antimicrobianos (Laborclin®) representativos das classes das penicilinas (amoxicilina - 10µg; ampicilina - 10µg), cefalosporinas (cefazolina - 30µg), carbapenes (imipenem - 10µg), quinolonas (ácido nalidíxico - 30µg; ciprofloxacina - 5µg; norfloxacina - 10µg), fenicóis (cloranfenicol - 30µg; fluorfenicol - 30µg), aminoglicosídeos (estreptomicina - 300µg; gentamicina - 10µg), inibidores de folatos (sulfonamida - 300µg; trimetoprim - 5µg), tetraciclina (tetraciclina - 30µg) e nitrofuranos (nitrofurantoína - 300µg). Foi usada a cepa de referência *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076 para validação do teste. Consideraram-se fenótipos com resistência múltipla a drogas (MDR), os isolados com resistência a duas ou mais classes de antimicrobianos simultaneamente (GLENN et al., 2015).

Determinantes moleculares de resistência

Foram selecionadas 50 amostras de *Salmonella enterica* pertencentes aos sorovares de maior prevalência no ciclo de produção de frangos de corte no presente estudo, de maior relevância para saúde pública e que apresentaram resistência fenotípica a duas ou

mais classes de antimicrobianos. Os sorovares de *Salmonella enterica* avaliados foram: Schwarzengrund (n=21), Albany (n=14), Heidelberg (n=7), Enteritidis (n=6) e Typhimurium (n=2).

Os isolados foram inoculados em meio de cultura XLD (Agar Xilose Lisina Desoxicolato) e incubados a 37°C por 24 horas. Após crescimento, uma colônia característica foi transferida para caldo LB (Luria Bertani Broth) e incubada a 37°C por 18 horas. O DNA genômico das amostras foi extraído utilizando kit de purificação de DNA genômico (promega®), sendo realizada a quantificação das amostras em nanoespectro (KASVI®). Os microtubos contendo o material genético foram conservados a -20°C até o momento do uso.

Inicialmente foi realizada a confirmação dos isolados como pertencentes ao gênero *Salmonella*, utilizando-se primers do gene *invA* descritos por Fratamico (2003) conforme Tabela 1. Para a reação de PCR, utilizou-se 50 a 80 ng de DNA, Tampão 1x (Invitrogen), 1,5 mM de MgCl₂, 0,2 mM de cada dNTP, 1,0 uM de cada iniciador, 1 U de Taq DNA Polimerase (Invitrogen®). O protocolo da PCR consistiu em um ciclo de desnaturação inicial a 95°C por 30 segundos, seguido de 30 ciclos de desnaturação a 95°C por 1 minuto, hibridização a 58°C por 1 minuto e extensão a 72°C por 30 segundos, e extensão final a 72°C por 7 minutos, conforme Paião et al. (2013) com modificações.

Foram pesquisados os genes que determinam resistência a tetraciclinas (*tetA*, *tetB*, *tetC*, *tetD*, *tetE* e *tetG*), aos beta-lactâmicos (*bla*TEM, *bla*SHV, *bla*OXA, *bla*CTX-M, *bla*CTX-M1, *bla*CTX-M2, *bla*CTX-M15, *bla*CMY-2), as sulfonamidas (*sul1*, *sul2*, *sul3*) e trimetoprim (*dfrA1*, *dfrA7*, *dfrA12*, *dfrA14*), utilizando os iniciadores de amplificação e protocolos previamente descritos (Tabela 1).

Tabela 1. Iniciadores utilizados na amplificação de fragmentos de DNA de genes que conferem resistência a diferentes antimicrobianos

Genes	Sequência de iniciadores (5'-3')	Tamanho (pb)	Hibridização (°C)	Referência
<i>invA</i>	F: CGG TGG TTT TAA GCG TAC TCT T R: CGA ATA TGC TCC ACA AGG TTA	796	58	Fratamico (2003)
<i>tetA</i>	F: TTGGCATTCTGCATTCACTC R: GTATAGCTTGCCGGAAGTCG	494	55	Ma et al. (2007)
<i>tetB</i>	F: CAGTGCTGTGTGTCATTAA R: GCTTGAATACTGAGTGTA	571	55	Ma et al. (2007)
<i>tetC</i>	F: CTTGAGAGCCTTCAACCCAG R: ATGGTCGTCATCTACCTGCC	418	55	Ma et al. (2007)
<i>tetD</i>	F: GCTCGGTGGTATCTCTGCTC R: AGCAACAGAATCGGGAACAC	546	55	Ma et al. (2007)
<i>tetE</i>	F: TATTAACGGGCTGGCATTTC R: AGCTGTCAGGTGGGTCAAAC	544	55	Ma et al. (2007)
<i>tetG</i>	F: GCTCGGTGGTATCTCTGCTC R: CAAAGCCCCTTGCTTGTTAC	550	55	Ma et al. (2007)
<i>Sul1</i>	F: TTTCTGACCCTGCGCTCTAT R: GTGCGGACGTAGTCAGCGCCA	425	55	Ma et al. (2007)
<i>Sul2</i>	F: CCTGTTTCGTCGACACAGA R: GAAGCGCAGCCGCAATTCAT	435	55	Ma et al. (2007)
<i>Sul3</i>	F: ATGAGCAAGATTTTTGGAATCGTAA R: CTAACCTAGGGCTTTGGTATTT	792	55	Ma et al. (2007)
<i>bla_{TEM}</i>	F: ATG AGT ATT CAA CAT TTC CGT G R: TTA CCA ATG CTT AAT CAG TGA G	861	51	Silva et al. (2011)
<i>bla_{SHV}</i>	F: ATG CGT TAT ATT CGC CTG TG R: GTT AGC GTT GCC AGT GCT CG	573	53	Silva et al. (2011)
<i>bla_{OXa}</i>	F: ACC AGA TTC AAC TTT CAA R: TCT TGG CTT TTA TGC TTG	598	55	Guerra et al. (2001)
<i>bla_{CTX-M}</i>	F: TTT GCG ATG TGC AGT ACC AGT AA R: CGA TAT CGT TGG TGG TGC CAT A	544	55	Silva et al. (2011)
<i>bla_{CTX-M2}</i>	F: GCG ACC TGG TTA ACT ACA ATC R: CGG TAG TAT TGC CCT TAA GCC	351	55	Silva et al. (2011)
<i>bla_{CTX-M1}</i>	F: GAC GAT GTC ACT GGC TGA GC R: AGC CGC CGA CGC TAA TAC A	499	56	Silva et al. (2011)
<i>bla_{CTX-M15}</i>	F: CAC ACG TGG AAT TTA GGG ACT R: GCC GTC TAA GGC GAT AAA CA	564	56	Silva et al. (2011)
<i>bla_{CMY-2}</i>	F: TGG CCG AAC TGA CAG GCA AA R: TTT CTC CTG AAC GTG GCT GGC	870	55	Chen et al. (2004)
<i>dfrA12</i>	F: GGT GSG CAG AAG ATT TTT CGC R: TGG GAA GAA GGC GTC ACC CTC	319	60	Cabrera et al. (2004)
<i>dfrA14</i>	F: GAG CAG CTI CTI TTI AAA GC R: TTA GCC CTT TII CCA ATT TT	393	60	Cabrera et al. (2004)
<i>dfrA7</i>	F: TTG AAA ATT TCA TTG ATT G R: TTA GCC TTT TTT CCA AAT CT	474	55	Cabrera et al. (2004)
<i>dfrB</i>	F: GAT CAC GTG CGC AAG AAA TC R: AAG CGC AGC CAC AGG ATA AAT	141	60	Cabrera et al. (2004)
<i>dfrA1</i>	F: GTGAACTATCACTAATGG R: TTAACCCTTTGCCAGATT	474	55	Cabrera et al. (2004)

RESULTADOS

A avaliação do perfil de resistência antimicrobiana dos isolados de *Salmonella enterica* (Tabela 2) mostrou os maiores índices aos princípios: sulfonamida (58,7%), trimetoprim (48,8%), tetraciclina (45,4%), ácido nalidíxico (44,6%), amoxicilina (26,4%), ampicilina (26,4%), cefazolina (22,3%) e estreptomicina (21,5%). Índices menores de resistência foram encontrados aos antimicrobianos nitrofurantoína (2,5%), imipenem (1,6%), cloranfenicol (1,6%) e gentamicina (0,8%). Nenhum dos isolados apresentou resistência aos princípios norfloxacina, ciprofloxacina e fluorfenicol.

Do total de 121 amostras de *S. enterica*, 25 (20,7%) foram suscetíveis a todas as classes de antimicrobianos testadas, 23 (19,0%) foram resistentes a uma classe e 73 (60,3%) foram resistentes a duas ou mais classes simultaneamente, considerados fenótipos MDR (Tabela 3). Destes, 15 isolados foram de fontes ambientais de criação, 7 de aves de corte e 47 de carcaças de frango.

Dos sorovares estudados, apenas 2 (Orion e Worthing) apresentaram suscetibilidade a todos os princípios antimicrobianos testados. Os sorovares de *S. enterica* que evidenciaram fenótipos MDR foram: Schwarzengrund (n=25), Albany (n=17), Enteritidis (n=7), Heidelberg (n=7), Kentucky (n=3), Muenchen (n=3), Typhimurium (n=1), Hadar (n=1), Agona (n=1), Panama (n=1), Anatum (n=1), Seftenberg (n=1), O:4,5 (n=3), O:3,10 (n=1) e O:4,5:I,v:- (n=1).

Tabela 2 – Perfil de resistência antimicrobiana de sorovares de *Salmonella enterica* isolados da produção de frangos de corte no Estado do Maranhão, 2014

Sorovar	n	AMO	AMP	CFZ	IPM	GEN	EST	NAL	NOR	CIP	SUL	TRI	TET	CLO	FLF	NIT
Schwarzengrund	34	16	16	13	2	0	17	16	0	0	19	16	24	0	0	0
Albany	24	3	3	3	0	0	2	16	0	0	19	16	8	0	0	0
Enteritidis	9	3	3	2	0	0	1	7	0	0	4	3	5	0	0	3
Heidelberg	9	2	2	1	0	1	1	4	0	0	4	3	7	1	0	0
Panama	6	1	1	1	0	0	0	1	0	0	5	5	1	0	0	0
Kentucky	5	3	3	3	0	0	0	0	0	0	3	3	5	0	0	0
Muenchen	5	0	0	0	0	0	2	2	0	0	3	2	3	0	0	0
Hadar	3	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0
Agona	3	1	1	1	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0
Typhimurium	2	1	1	1	0	0	0	1	0	0	2	2	1	0	0	0
Derby	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Anatum	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0
Seftenberg	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0
Orion	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Worthing	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
O:4,5*	9	2	2	2	0	0	3	2	0	0	5	4	4	0	0	0
O:6,8*	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
O:3,10*	2	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0
O:4,5:I,v:-*	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
Total	121	32	32	27	2	1	26	54	0	0	71	59	55	2	0	3
%	100	26,4	26,4	22,3	1,6	0,8	21,5	44,6	0	0	58,7	48,8	45,4	1,6	0	2,5

* Estrutura flagelar não identificada

AMO: amoxicilina; AMP: ampicilina; CFZ: cefazolina; CIP: ciprofloxacina; CLO: cloranfenicol; EST: estreptomicina; FLF: fluorfenicol; GEN: gentamicina; IPM: imipenem; NAL: ácido nalidíxico; NIT: nitrofurantoina; NOR: norfloxacina; SUL: sulfonamida; TET: tetraciclina; TRI: trimetoprim.

Tabela 3 – Distribuição conforme a resistência às classes de antimicrobianos, de sorovares de *Salmonella enterica* de isoladas de diferentes fontes da cadeia de produção de frangos do Estado do Maranhão, 2014

<i>Salmonella enterica</i>	Isolados resistentes às classes de antimicrobianos						Total
	0		1		≥ 2		
	n	%	n	%	n	%	
Sorovar							
Schwarzengrund	5	14,7	4	11,8	25	73,5	34
Albany	3	12,5	4	16,7	17	70,8	24
Enteritidis	0	0,0	2	22,2	7	77,8	9
Heidelberg	1	11,1	1	11,1	7	77,8	9
Panama	0	0,0	5	83,3	1	16,7	6
Kentucky	2	40,0	0	0,0	3	60,0	5
Muenchen	2	40,0	0	0,0	3	60,0	5
Hadar	2	66,7	0	0,0	1	33,3	3
Agona	0	0,0	2	66,6	1	33,3	3
Typhimurium	0	0,0	1	50,0	1	50,0	2
Derby	2	100,0	0	0,0	0	0,0	2
Anatum	0	0,0	0	0,0	1	33,3	1
Seftenberg	0	0,0	0	0,0	1	33,3	1
Orion	1	100,0	0	0,0	0	0,0	1
Worthing	1	100,0	0	0,0	0	0,0	1
O:4,5*	3	33,3	3	33,3	3	33,3	9
O:6,8*	2	66,7	1	33,3	0	0,0	3
O:3,10*	1	50,0	0	0,0	1	50,0	2
O:4,5:I,v:-*	0	0,0	0	0,0	1	100,0	1
Fontes de isolamento							
Ambiente de criação	5	19,2	6	23,1	15	57,6	26
Frangos de corte	0	0,0	0	0,0	7	100,0	7
Carcças	20	22,7	17	19,3	51	58,0	88
Total	25	20,7	23	19,0	73	60,3	121

*estrutura flagelar não identificada

Foram detectados 11 dos 21 genes que codificam a resistência às sulfonamidas, trimetoprim, beta-lactâmicos e tetraciclinas, em isolados de *S. enterica* sorovares Schwarzengrund, Albany, Enteritidis, Heidelberg e Typhimurium (**APÊNDICE A**). Em 20 isolados com fenótipos de resistência aos beta-lactâmicos amoxicilina, ampicilina e cefazolina, 15 (75%) apresentaram pelo menos um gene de resistência antimicrobiana (Tabela 4). Foram detectados os genes *bla*CTX-M, *bla*CTX-M2 e *bla*SHV em 11 (55%), 6 (30%) e 3 (15%) amostras avaliadas, respectivamente. O gene *bla*CTX-M apareceu sozinho na maioria das amostras positivas (6 isolados), seguido da associação *bla*CTX-M e *bla*CTX-M2 (3 isolados). Nas sulfonamidas, o índice de detecção dos genes de resistência foi de 30 (73,17%) dos 41 isolados com fenótipos de resistência, nos quais *sul1* foi predominante aparecendo em 27 (65,85%) e *sul2* em 5 (12,19%) das amostras. Os genes de resistência *tet* foram detectados em quase todos (38/ 97,43%) dos 39 isolados com fenótipos de resistência as tetraciclinas. A presença dos genes de resistência foi de 13 (33,31%) para *tetA*, 28 (71,79%) para *tetB*, 22 (56,41%) para o *tetC* e 4 (10,25%) para o *tetE*. Em 12 (30,76%) amostras com fenótipo de resistência as tetraciclinas, apenas o gene *tetB* foi observado e em 10 (25,64%) isolados esse gene apareceu associado ao gene *tetC*. Quanto a resistência ao trimetoprim, 17 (51,51%) dos 33 isolados fenótipos avaliados apresentaram a presença de determinantes genéticos de resistência, nos quais 13 (39,39%) apresentaram o gene *dfrA12* e 7 (21,21%) o gene *dfrA1*.

Tabela 4 – Perfil de resistência fenotípica a antimicrobianos e genes de resistência a beta-lactâmicos, sulfonamidas, trimetoprim e tetraciclinas encontrados em 50 amostras de *Salmonella enterica* isoladas da cadeia produtiva de frango do Estado do Maranhão, 2014

Isolados	<i>S. enterica</i> sorovar	Origem	Resistência fenotípica	Resistência genotípica
CA 172-1	Schwarzengrund	carcaça	Nal Tet	<i>tetB tetE</i>
CA 15	Schwarzengrund	carcaça	Est Sul Tet	<i>sul2 tetB</i>
CA 179-1	Schwarzengrund	carcaça	Est Sul Tet	<i>tetB tetC</i>
CA 105	Schwarzengrund	carcaça	Est Nal Tet	<i>tetB</i>
CA 138	Schwarzengrund	carcaça	Est Nal Tet	<i>tetB</i>
CA 139	Schwarzengrund	carcaça	Est Nal Tet	<i>tetA tetC</i>
CA 25	Schwarzengrund	carcaça	Sul Tri Tet	<i>tetB dfrA12</i>
CA 140	Schwarzengrund	carcaça	Est Nal Sul Tet	<i>sul1 tetB tetC tetE</i>
CA 81	Schwarzengrund	carcaça	Amo Amp Sul Tri Tet	<i>sul1 tetB blaCTX-M2</i>
CA 106	Schwarzengrund	carcaça	Amo Amp Nal Sul Tri Tet	<i>tetB blaCTX-M2 dfrA12</i>
CA 115	Schwarzengrund	carcaça	Amo Amp Cfz Est Nal Tet	<i>tetA tetB blaCTX-M</i>
CA 10	Schwarzengrund	carcaça	Amo Amp Cfz Sul Tri Tet	<i>sul1 blaCTX-M dfrA12</i>
P 31	Schwarzengrund	propé	Amo Amp Cfz Sul Tri Tet	<i>sul1 tetB tetC dfrA12</i>
CA 99	Schwarzengrund	carcaça	Amo Amp Cfz Est Sul Tri Tet	<i>sul1 tetA tetB tetE blaCTX-M blaCTX-M2 dfrA12</i>
SA 22	Schwarzengrund	suabe de arrasto	Amo Amp Cfz Est Sul Tri Tet	<i>sul1 tetA tetC dfrA1</i>
SA 23	Schwarzengrund	suabe de arrasto	Amo Amp Cfz Est Sul Tri Tet	<i>sul1 tetA tetC dfrA12</i>
SA 01	Schwarzengrund	suabe de arrasto	Amo Amp Cfz Nal Sul Tri Tet	<i>sul1 tetA tetC dfrA1</i>
CA 111	Schwarzengrund	carcaça	Amo Amp Cfz Est Nal Sul Tri Tet	<i>sul1 tetB blaCTX-M blaCTX-M2</i>
SC 11	Schwarzengrund	suabe cloacal	Amo Amp Cfz Est Nal Sul Tri Tet	<i>tetA blaCTX-M blaCTX-M2</i>
SC 17	Schwarzengrund	suabe cloacal	Amo Amp Cfz Est Nal Sul Tri Tet	<i>sul1 sul2 tetA blaCTX-M</i>
CA 136	Schwarzengrund	carcaça	Amo Amp Cfz Est Imp Nal Sul Tri Tet	<i>tetB tetC blaCTX-M blaSHV dfrA1 dfrA12</i>
CA 02	Albany	carcaça	Nal Sul Tri	<i>sul1</i>
CA 03	Albany	carcaça	Nal Sul Tri	<i>sul1</i>
CA 11	Albany	carcaça	Nal Sul Tri	<i>sul1</i>

Isolados	<i>S. enterica</i> sorovar	Origem	Resistência fenotípica	Resistência genotípica
CA 24	Albany	carcaça	Nal Sul Tri	<i>dfrA1</i>
CA 26	Albany	carcaça	Nal Sul Tri	<i>sul1</i>
CA 102	Albany	carcaça	Nal Sul Tri	<i>sul1</i>
CA 175-2	Albany	carcaça	Nal Sul Tet	<i>sul1 tetB</i>
CA 173-2	Albany	carcaça	Est Nal Sul Tet	<i>sul1 tetB</i>
CA 174-1	Albany	carcaça	Est Nal Sul Tet	<i>tetB tetC</i>
CA 04	Albany	carcaça	Nal Sul Tri Tet	<i>sul1 tetB</i>
CA 17	Albany	carcaça	Nal Sul Tri Tet	<i>tetB</i>
CA 121	Albany	carcaça	Nal Sul Tri Tet	<i>sul1 tetB</i>
CA 46	Albany	carcaça	Amo Amp Cfz Sul Tri	<i>sul2</i>
CA 14	Albany	carcaça	Amo Amp Cfz Nal Sul Tri Tet	<i>sul1 tetB blaCTX-M2 dfrA12</i>
P 30	Enteritidis	propé	Sul Tri Tet	<i>sul1 tetA tetC</i>
SC 54	Enteritidis	suabe cloacal	Nal Tet	<i>tetB tetC</i>
SC 58	Enteritidis	suabe cloacal	Nal Nit Sul Tet	<i>sul1 tetB tetC</i>
SA 28	Enteritidis	suabe de arrasto	Amo Amp Nal Nit Sul Tri	<i>tetB tetC blaSHV dfrA1 dfrA12</i>
SA 24	Enteritidis	suabe de arrasto	Amo, Amp, Cfz Nal Sul Tri Nit	<i>tetB tetC blaCTX-M blaSHV dfrA1 dfrA12</i>
SA 19	Enteritidis	suabe de arrasto	Amo Amp Cfz Est Nal Sul Tri Tet	<i>sul1 sul2 tetA tetC blaCTX-M dfrA12</i>
CA 53	Heidelberg	carcaça	Amo Amp	<i>blaCTX-M</i>
CA 172-2	Heidelberg	carcaça	Nal Tet	<i>tetB tetC</i>
CA 40	Heidelberg	carcaça	Nal Clo Tet	<i>tetC</i>
CA 171-1	Heidelberg	carcaça	Sul Tri Tet	<i>sul1 tetB tetC</i>
CA 178-2	Heidelberg	carcaça	Nal Sul Tri Tet	<i>sul1 tetA tetC</i>
CA 167-1	Heidelberg	carcaça	Amo Amp Cfz Sul Tet	<i>sul1 tetA tetB tetC blaCTX-M</i>
CA 112	Heidelberg	carcaça	Est Nal Sul Tri Tet	<i>sul1 tetA tetC dfrA1</i>
SA 13a	Typhimurium	suabe de arrasto	Sul Tri	<i>sul2 dfrA12</i>
SA 10	Typhimurium	suabe de arrasto	Amo Amp Cfz Nal Sul Tri Tet	<i>tetC tetE dfrA12</i>

DISCUSSÃO

A *Salmonella enterica* é um dos mais relevantes agentes etiológicos de doenças de origem alimentar (WHO, 2014). A circulação de salmonelas com fenótipos de resistência influencia na terapêutica antimicrobiana, especialmente em casos graves, causando significantes taxas de morbidade e mortalidade na população humana (ANDINO; HANNING, 2015; HUR; JAWALE; LEE, 2012). As aves, o ambiente de criação e os produtos de origem avícola são importantes reservatórios de *Salmonella* spp. resistentes a antimicrobianos, o que tem incentivado diversos estudos sobre esse tema na cadeia produtiva de aves.

No presente estudo, 79,3% (96/121) dos isolados de *S. enterica* originadas na cadeia produtiva de frangos apresentaram resistência aos antimicrobianos. Estudos em várias partes do mundo tem constatado taxas elevadas de resistência antimicrobiana em isolados *Salmonella* spp., com variações de 51,2% a 87,2%, em aves (SCUR et al., 2014), em fontes ambientais de criação de frangos (PANDINI et al., 2015; VOSS RECH, 2015) e em carne de frango (KIM et al., 2012; WANG et al., 2010). O relatório anual da Autoridade Europeia de Segurança dos Alimentos (EFSA), sobre a vigilância da resistência antimicrobiana em bactérias causadoras de zoonoses, mostra que as salmonelas isoladas de frangos de corte e seus produtos apresentam taxas de resistência antimicrobiana mais elevadas em relação aos isolados de outras espécies de animais domésticos (EFSA, 2015). Isso pode ser reflexo da elevada pressão seletiva que essas bactérias sofrem com as práticas de manejo da avicultura moderna.

Na produção de frangos de corte, o uso dos agentes antimicrobianos pode ser com a finalidade terapêutica ou como promotores do crescimento. No Brasil, os grupos das tetraciclina, sulfonamidas, quinolonas e fluoroquinolonas são descritos como os agentes mais importantes na terapêutica antimicrobiana da produção avícola, com uso exclusivo veterinário, sendo vedado a utilização destes como aditivos zootécnicos melhoradores de desempenho animal há mais de 15 anos (BRASIL, 2009; SILVA; HOLLENBACH, 2010). Sabe-se que qualquer uso de antimicrobianos provoca um processo de seleção de bactérias resistentes aos medicamentos a longo ou a curto prazo. Portanto, o uso frequente desses grupos de antimicrobianos nas aves pode estar relacionado aos elevadas taxas de *Salmonella* spp. com resistência as sulfonamidas, ácido nalidíxico e tetraciclina, encontrados no presente estudo.

A sulfonamida foi o princípio antimicrobiano que apresentou o maior índice de resistência (71/ 58,7%) nas salmonelas de diferentes fontes de isolamento. Esse resultado

assemelha-se aos constatado por Medeiros et al. (2011) que isolaram 250 amostras de *Salmonella* de carcaças de frango em 14 unidades federativas do Brasil e encontraram índice de resistência de 58% para as sulfonamidas. Da mesma forma, Minharro et al. (2015) observaram índice de resistência de 53,84% em *Salmonella* spp. isoladas de carne de frango na região norte do país. No Norte do Vietnã, Thai et al. (2012) constataram a resistência às sulfonamidas de 58,1% em 241 amostras de *Salmonella* originadas de carne de aves e de suínos. A elevada proporção de isolados resistentes à sulfonamidas pode estar relacionada ao uso extensivo desse antimicrobiano na avicultura de corte por décadas (GUARDABASSI; JENSEN; KRUSE, 2010; MATIELLO et al., 2015).

Outro fator atribuído é a disseminação do gene *sul* extra, na qual expressa uma forma da enzima dihidrofolato sintase insensível a ação das sulfonamidas (ABATCHA et al., 2014). Em nosso estudo, foram avaliados 41 isolados com fenótipos de resistência às sulfonamidas, sendo o gene *sul* detectado em 30 (73,17%) desses isolados. O gene *sul1* foi predominante (65,85%) e presente em *Salmonella* ser. Albany (10 isolados), *Salmonella* ser. Schwarzengrund (10 isolados), *Salmonella* ser. Heidelberg (4 isolados) e *Salmonella* ser. Enteritidis (3 isolados). A ampla disseminação e predominância do gene *sul1* em *S. enterica* isoladas de aves e em produtos avícolas tem sido registrada nesses sorovares (BRASIL, 2012; CHEN et al., 2004; GLENN et al., 2013; MATIELLO et al., 2015; RIBEIRO et al., 2011). Sua presença está geralmente associada aos cassetes gênicos dos integrons de classe 1, elementos responsáveis pela disseminação clonal ou por via horizontal, de múltiplos genes de resistência aos antimicrobianos em *S. enterica* (COSBY et al., 2015; KELLY; VESPERMANN; BOLTON, 2009; FORTES et al., 2012).

O grupo das tetraciclina destacou-se com taxas de resistência de 45,4%, sendo *Salmonella* ser. Schwarzengrund (24/34) e *Salmonella* ser. Heidelberg (7/9) os que apresentaram maior frequência de cepas resistentes. Taxa aproximada de resistência a tetraciclina em *Salmonella* isoladas de granjas avícolas (52,44%) foram encontrados por Voss-Rech et al. (2015). Chen et al. (2010) e Pandini et al. (2015) também constaram *Salmonella* ser. Schwarzengrund e *Salmonella* ser. Heidelberg isolados de fluxo de produção avícola com elevada frequência de resistência a esse antimicrobiano, respectivamente. O elevado percentual de isolados resistentes as tetraciclina é presumível, pois esses são antimicrobianos mais antigos utilizados na produção animal e teve intensa utilização na medicina humana e veterinária, além de seu uso na indústria de rações para animais no Brasil até sua proibição como promotor de crescimento em 1998, sendo ainda utilizados na terapêutica animal (THAKER; SPANOGIANNOPOULOS; WRIGHT, 2010). Países como

Brasil (64,6% - SCUR et al., 2014), Estados Unidos (65,8% - US FOOD AND DRUG ADMINISTRATION - FDA, 2012) e China (65,9% - WANG et al., 2015) ainda registram elevados índices de resistência às tetraciclinas em *Salmonella* isoladas da cadeia produtiva de aves.

A disseminação da resistência às tetraciclinas no gênero *Salmonella* está associada a inúmeros genes de resistência (*tet*). Em nosso estudo, a presença do gene *tet* coincidiu em quase todas os isolados com fenótipo de resistência (38/39; 97,4%), com exceção de um isolado. Em *Salmonella* spp., o principal mecanismo de resistência associado a esses genes é a ativação das bombas de efluxo, que impedem o acúmulo da droga dentro da célula em concentração necessária para morte da bactéria (HUR; JAWALE; LEE, 2012). Diferentemente de outras pesquisas que detectaram predominância do gene *tetA* em isolados de diferentes fontes avícolas (ADESIJI et al., 2014; GLENN et al., 2013; MATIELLO et al., 2015; RIBEIRO et al., 2011), em nosso estudo o *tetB* foi predominante (71,79%), sozinho ou associado ao *tetC*.

Outro grupo antimicrobiano que evidenciou resistência em 44,6% dos isolados foi a quinolona ácido nalidíxico, destacando *Salmonella* ser. Enteritidis que apresentou 7 dos 9 isolados (77,7%) com fenótipo de resistência a esse princípio. Esse resultado corrobora com trabalhos que mostram elevada resistência do *Salmonella* ser. Enteritidis a essa quinolona, principalmente em isolados de aves e de alimentos de origem avícola (KOTTWITZ et al., 2012). Em estudo realizado em *Salmonella* ser. Enteritidis associados a surtos humanos no sul do Brasil, entre 2007 a 2012, Capalonga et al. (2014) encontraram índice de resistência de 89,1%, sendo constatado um aumento crescente de resistência a esse antimicrobiano. Rowlands et al. (2014) observaram o aparecimento de resistência ao ácido nalidíxico em *Salmonella* isoladas de alimentos associados ou não a surtos no país a partir de 2000 e perceberam que 70% dos isolados de origem alimentar apresentavam resistência ao ácido nalidíxico e que a maioria desses isolados era de aves e de produtos de origem avícola. Silva e Duarte (2002) descrevem que o uso intensivo das quinolonas e de drogas similares na alimentação de aves pode ter facilitado a disseminação de *Salmonella* ser. Enteritidis resistentes ao ácido nalidíxico no Brasil.

Em *Salmonella* spp., a resistência às quinolonas é determinada principalmente por alterações no sítio de ligação do antimicrobiano à enzima topoisomerase II (DNA girase), através de mutações em regiões específicas do gene *gyrA*, sendo a frequência e a posição de mutação depende de cada sorovar (SOUSA et al., 2011). Esse mecanismo é capaz de provocar elevada resistência às quinolonas não fluoradas como ácido nalidíxico,

além de reduzir a suscetibilidade a fluoroquinolonas (FERREIRA et al., 2013; SOUZA et al., 2010a). Em nosso estudo, todas as amostras foram sensíveis à ciprofloxacina, a fluoroquinolona mais comum no tratamento de salmoneloses invasivas, exceto em uma cepa de *Salmonella* ser. Albany isolada de carcaça, que apresentou resistência intermediária a ciprofloxacina e resistência ao ácido nalidíxico. Esses resultados revestem-se de atenção, visto que índices elevados de *Salmonella* spp. resistentes ao ácido nalidíxico pode ser um fator precursor de resistência as fluoroquinolonas, caso adquiriam mecanismos adicionais de resistência após a exposição as fluoroquinolonas, provocando falhas no tratamento clínico (SOUZA et al., 2010b). Considera-se ainda que podem existir outros mecanismos associados resistência às quinolonas tais como as hiper expressão das bombas de efluxo, alterações nas porinas da membrana externa e resistência a quinolonas mediada por plasmídeos (SJOLUND-KARLSSON et al., 2010)

Um resultado importante foi quanto ao grupo dos beta-lactâmicos, representado no presente estudo por ampicilina, amoxicilina e cefazolina. Nestes, foram detectados três tipos diferentes de genes *bla* (*bla*CTX-M, *bla*CTX-M2 e *bla*SHV) que codificam as beta-lactamases de espectro estendido (ESBL), capazes de hidrolisar cefalosporinas importantes para controle de infecções relacionadas com a assistência à saúde (CHAUDHARY; AGGARWAL, 2004). Corroborando com resultados encontrados em nosso estudo, as enzimas pertencentes à família CTX-M são registradas como predominantes em enterobactérias da América do Sul (SILVA; LINCOPAN, 2012), com registro de detecção de *bla*CTX-M2 em *Salmonella* recuperadas de aves e produtos de origem avícola do Brasil (COAN, 2014; FERNANDES et al., 2009; SILVA et al., 2013;). Ênfase é dada a *Salmonella* ser. Schwarzengrund e *Salmonella* ser. Enteritidis que apresentaram além desse gene de resistência, o gene *bla*SHV. Nos dois isolados de *Salmonella* ser. Enteritidis e em um isolado de *Salmonella* ser. Schwarzengrund com detecção de *bla*SHV, tiveram resistência múltipla a seis ou mais antibióticos. Os genes *bla*SHV são considerados raros em *Salmonella*, porém têm sido detectados em animais de produção de alimentos e apresentam alta capacidade de transferência horizontal entre bactérias da família *Enterobacteriaceae* através de plasmídeos conjugativos (POUGET et al. 2013).

Os marcadores de resistência de ESBL têm sido associados com integron de classe 1, que codifica resistência a outras classes de antimicrobianos como aminoglicosídeos, trimetoprim, sulfonamidas, tetraciclinas e cloranfenicol, o que determina que as cepas de *Salmonella* produtoras de ESBL sejam geralmente multirresistentes (BRASIL, 2012; SILVA; LINCOPAN, 2012; WANG et al. 2010). Com exceção de um único isolado, as 15 amostras de

Salmonella sorovares Schwarzengrund, Enteritidis e Heidelberg que tiveram a presença dos genes ESBL, eram fenótipos MDR para 4 ou mais classes de antimicrobianos, especialmente aos princípios sulfonamidas (13 isolados), trimetoprim (12 isolados), tetraciclina (12 isolados) e estreptomicina (8 isolados).

O gene *bla*CTX-M e *bla*CTX-M2 tiveram maior associação com os determinantes gênicos *sul1*, *tetB* e *dfrA12*, enquanto todas as amostras com gene *bla*SHV apresentaram associação com os genes *tetB*, *tetC*, *dfrA1* e *dfrA12*. Pouget et al. (2013) encontraram forte associação do gene *bla*SHV com os genes de resistência às sulfonamidas (*sul1*), trimetoprim (*dfrA1*), tetraciclina (*tetA* e *tetB*) e estreptomicinas (*aadA*), e com os plasmídeos carreadores de integron de classe 1 em isolados de *Salmonella* do CIPARS (Programa Integrado do Canadá de Vigilância de Resistência Antimicrobiana). A presença de vários determinantes genéticos de resistência aos antimicrobianos em alguns isolados de *Salmonella* estudados sugerem uma potencial co-seleção de genes de resistência a classes distintas de antimicrobianos de uso convencional na avicultura.

Em nosso estudo, a presença de genes de resistência a grupos de antimicrobianos tradicionalmente usados na terapêutica animal ou que já foram usados como promotores de crescimento na avicultura pode refletir a pressão seletiva exercida a população bacteriana pelo uso indiscriminado de antimicrobianos na produção animal. Ressalta-se que a disseminação desses genes de resistência entre bactérias a partir da produção animal pode percorrer múltiplos caminhos ao longo da cadeia produtiva de alimentos, resultando na preservação de cassetes gênicos complexos que expressam resistência múltipla aos fármacos (MDR) (KHACHATRYAN et al., 2006; MARSHALL; LEVY, 2011).

As amostras com fenótipos MDR tiveram uma frequência de 60,3% (73 isolados), que comparativamente com trabalhos nas regiões centro-oeste, sul e sudeste do Brasil (MATIELLO et al., 2015; MORAES et al., 2014; SCUR et al., 2014), mostraram-se elevados. As diferenças encontradas em pesquisas quanto a resistência antimicrobiana refletem o uso de agentes antimicrobianos ou a distribuição de cepas em distintas regiões de um país. Vários fatores e eventos relacionados a cadeia produtiva de aves pode influenciar na aquisição e persistência de bactérias com resistência antimicrobiana tais como o manejo adotado nas granjas, os lotes de aves, o sorovar predominante e a região em estudo (MARSHALL; LEVY, 2011; MINHARRO et al., 2015).

Os dados referentes aos perfis de resistência antimicrobiana das amostras conforme as fontes de isolamento revelam que os isolados com fenótipos MDR estiveram presentes nos mais variados pontos da cadeia produtiva de aves. Verificou-se que as cepas

isoladas de aves foram as que apresentaram maior proporção de fenótipos MDR (100%), em relação as fontes ambientais de criação de aves (57,6%) e de carcaças de frango (58,0%). Esse resultado reforça a assertiva de que as aves podem ser importantes reservatórios de *Salmonella* com fenótipos MDR para cadeia alimentar dos seres humanos.

O aumento da prevalência de *Salmonella* com fenótipos MDR é uma realidade mundial, tornando-se um grave problema de saúde pública, principalmente quando envolve sorovares associados a infecções humanas de origem alimentar (HUR; JAWALE; LEE, 2012). No Brasil, *Salmonella* ser. Enteritidis é o principal agente causador do paratifo aviário e de salmonelose em seres humanos (CARDOSO et al., 2015; KOTTWITZ et al., 2010; SILVA; DUARTE, 2002;) e várias pesquisas mostram um aumento relevante de fenótipos MDR de origem aviária, nas últimas décadas (CAPALONGA et al., 2014; MEDEIROS et al., 2012; NUNES et al., 2009; WANG et al., 2015). Em nosso estudo, *Salmonella* ser. Enteritidis apresentou todos os 9 isolados de fontes ambientais com resistência antimicrobiana, sendo 6 com fenótipo MDR e destes, 2 isolados apresentaram resistência de 7 ou 8 classes de antimicrobianos, simultaneamente, com presença de variados determinantes genéticos para as classes de sulfonamidas (*sul1*, *sul2*), aminoglicosídeos (*bla*CTX-M, *bla*SHV), trimetoprim (*dfrA1*, *dfrA12*) e tetraciclinas (*tetA*, *tetB*, *tetC*). Portanto, reconhecendo o potencial zoonótico do *Salmonella* ser. Enteritidis, esses resultados podem representar condição de risco, considerando a capacidade de recepção e intercâmbio de genes de resistência antimicrobiana em salmonelas, passíveis de disseminação através da cadeia alimentar.

Notou-se que *Salmonella* ser. Schwarzengrund evidenciou os maiores índices de fenótipos multirresistentes (25/ 73,5%), em isolados de diferentes fontes. O padrão de resistência mais comum observado em fenótipos com resistência ≥ 7 antimicrobianos (8 isolados) foi Amo, Amp, Cfz, Est, Nal, Sul, Tri e Tet (4 isolados). De forma parecida, Chen et al. (2010) constataram fenótipos MDR em *Salmonella* ser. Schwarzengrund isolados de carne de frangos de Taiwan apresentando padrão de resistência as classes Amp, Clo, Est, Nal Sul, Tri e Tet. Esses pesquisadores encontraram alta frequência de isolados com resistência ao cloranfenicol, o que diferenciou em nosso estudo, onde todos os isolados apresentaram suscetibilidade a esse antibiótico. *Salmonella* ser. Schwarzengrund é um dos poucos sorovares de *S. enterica* que causa salmoneloses invasivas (VUGIA et al., 2004). A circulação de cepas do *Salmonella* ser. Schwarzengrund com alta frequência de fenótipos MDR e com presença de variados genes de resistência antimicrobiana, na cadeia produtiva de aves de produção, pode ser considerado preocupante para saúde pública, pois limita o número de

antimicrobianos para tratamento em casos de infecções graves (AKIYAMA; KHAN et al., 2011).

CONCLUSÃO

O presente estudo demonstra a ocorrência de fenótipos de *Salmonella enterica* MDR na cadeia de produção de frangos de corte da região Nordeste do Brasil. Os isolados de diferentes fontes evidenciaram elevada frequência de resistência aos grupos antimicrobianos das sulfonamidas, trimetoprim, tetraciclina e beta-lactâmicos e a presença de genes que codificam resistência a esses grupos. *S. enterica* sorovares Schwarzengrund, Albany e Enteritidis tiveram as maiores frequências de fenótipos com múltipla resistência a fármacos associados a genes de resistência. Os isolados da cadeia produtiva de aves destinadas ao consumo humano podem constituir risco à saúde pública, tendo em vista a possível disseminação de *Salmonella* MDR para seres humanos e implicações no tratamento de quadros clínicos graves.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Científico do Maranhão (FAPEMA), a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão (IFMA) pelo financiamento da pesquisa.

REFERÊNCIAS

- ABATCHA, M. G.; ZAKARIA, Z.; KAUR, D. G.; THONG, K. L. Review Article: A trends of *Salmonella* and antibiotic resistance. **Advances in Life Science and Technology**, v. 17, 2014.
- ADESIJI, Y. O.; DEEKSHIT, V. K.; KARUNASAGAR, I. Antimicrobial-resistant genes associated with *Salmonella spp.* isolated from human, poultry, and seafood sources. **Food Science e Nutrition**, v.2, n.4, p.436–442, 2014.
- AKIYAMA, T.; KHAN, A.A. Molecular characterization of strains of fluoroquinolone-resistant *Salmonella enterica* serovar Schwarzengrund carrying multigene resistance isolated from imported food. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy Advance**, v.18, n.1, jan., p.101-110, 2011.

ANDINO, A.; HANNING, I. *Salmonella enterica*: Survival, Colonization, and Virulence Differences among Serovars. **The Scientific World Journal**, vol. 2015, Article ID 520179, 16 p. 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Programa Nacional De Monitoramento Da Prevalência e da Resistência Bacteriana Em Frango - PREBAF. **Relatório de Pesquisa em Vigilância Sanitária de Alimentos. Monitoramento da prevalência e do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos em enterococos e salmonelas isolados de carcaças de frango congeladas comercializadas no Brasil.** Brasília, 2012. 171p. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Alimentos/Assuntos+de+Interesse/Monitoramento+e+Pesquisa/PREBAF> Acesso em: 10 abr. 2014.

BAUER, A.W.; KIRB, M.M.; SHERRIN, J.D. Antibiotics susceptibility testing by standardized single disk method. **American Journal of Pathology**, v.45, n.4, p.493-496, 1966

BIFFI CPI; STEFANI L.; MILETTI, L.C.; MATIELLO, C.A.; BACKES, R.G.I.; ALMEIDA, J.M.I.; NEVES, G.B.I. Phenotypic and Genotypic Resistance Profile of *Salmonella* Typhimurium to Antimicrobials Commonly Used in Poultry. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.16, n.2, p.93-96, 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. Instrução Normativa nº 26, de 9 de julho de 2009. Regulamento técnico para a fabricação, o controle de qualidade, a comercialização e o emprego de produtos antimicrobianos de uso veterinário. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2009. 10 jul. 2009, Seção 1.

CABRERA, R.; RUIZ, J.; MARCO, F.; OLIVEIRA, I.; ARROYO, M.; ALADUEÑA, A.; USERA, M.A.; DE ANTA, T.J.; GASCÓN, J.; VILA, J. Mechanism of resistance to several antimicrobial agents in *Salmonella* clinical isolates causing traveler's diarrhea. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.48, n.10, p. 3934–3939, 2004.

CARDOSO, A. L. S. P.; KANASHIRO, A. M. I.; STOPPA, G. F. Z.; CASTRO, A. G. M. DE; LUCIANO, R. L. Ocorrência de *Salmonella* spp. em carcaças de frango provenientes de abatedouros do estado de São Paulo, Brasil, no período de 2000 a 2010. **Revista científica de Medicina Veterinária**, Ano XIII, n. 24, jan., 2015.

CAPALONGA, R.; RAMOS, R.C.; BOTH, J.M.; SOEIRO, M.L.T.; LONGARAY, S.M.; HAAS, S.; TONDO, E.C. *Salmonella* serotypes, resistance patterns, and food vehicles of salmonellosis in southern Brazil between 2007 and 2012. **The Journal Infection Developing Countries**, v.8, n.7, p.811-817, 2014.

CHAUDHARY, U.; AGGARWAL R. Extended Spectrum β -lactamases (ESBL) - An Emerging Threat to Clinical Therapeutics. **Indian Journal Medicine Microbiology**, v.22, n.2, p.75-80, abr.-jun., 2004.

CHEN, M. H.; WANG, S. W.; HWANG, W. Z.; TSAI, S. J.; HSIH, Y. C.; CHIOU, C. S.; TSEN, H. Y. Contamination of *Salmonella* Schwarzengrund cells in chicken meat from traditional marketplaces in Taiwan and comparison of their antibiograms with those of the human isolates. **Poultry Science**, v. 89, n.2, p. 359-365, 2010.

CHEN, S.; ZHAO, S.; WHITE, D.G.; SCHROEDER, C.M.; LU, R.; YANG, H.; McDERMOTT, P.F.; AYERS, S.; MENG, J. Characterization of Multiple-Antimicrobial-Resistant *Salmonella* Serovars Isolated from Retail Meats. **Applied and environmental microbiology**, v.70, n.1, p. 1–7, 2004.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARD INSTITUTE - CLSI. **Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals**. 3ed. CLSI, document M131-A3, Wayne, PA, 2008.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARD INSTITUTE - CLSI. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 23rd Informational Supplement**. Approved Standard CLSI Documents M100-S23, Wayne, PA, 2013.

COAN, M.M. **Detecção de genes codificadores de resistência antimicrobiana de importância clínica em amostras de carne de frango**. 2014. 98p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade de São Paulo: Faculdade de Saúde Pública, São Paulo, 2014.

COSBY, D. E.; COX, N. A.; HARRISON, M. A.; WILSON, J. L.; BUHR, R. J.; FEDORKA-CRAY, P. J. *Salmonella* and antimicrobial resistance in broilers: A review. **The Journal Applied Poultry Research**, v. 24, p.408–426, 2015.

DAHSHAN, H.; SHAHADA, F.; CHUMA, T.; MORIKI, H.; OKAMOTO, K. Genetic analysis of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovars Stanley and Typhimurium from cattle. **Veterinary Microbiology**, v. 145, n.1-2, set., p. 76–83, 2010.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. EFSA. **Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2013**. EFSA Journal 2015, v.13, n.2, 4036, 178 p., 2015.

FERRARI, R.; GALIANA, A.; CREMADES, R.; RODRÍGUEZ, J.C.; MAGNANI, M.; TOGNIM, M. C. B.; OLIVEIRA, T. C. R. M.; ROYO, G. Plasmid-mediated quinolone resistance (PMQR) and mutations in the topoisomerase genes of *Salmonella enterica* strains from Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, n. 44, v.2, p.651-656, 2013.

FERNANDES, S.; PATERSON, D. L.; GHILARDI-RODRIGUES, A. C.; ADAMS-HADUCH, J. M.; TAVECHIO, A.T.; DOI, Y. CTX-M-2–Producing *Salmonella* Typhimurium isolated from Pediatric Patients and Poultry in Brazil. **Microbial Drug Resistance**, v. 15, n.4, 2009.

FORTES, T. P.; FAGUNDES, M. Q.; VASCONCELLOS, F. A.; TIMM, C. D.; SILVA, E. F. Ilhas de patogenicidade de *Salmonella enterica*: uma revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo, v.71, n.2, p.219-27, 2012.

FRATAMICO, P.M. Comparison of culture, polymerase chain reaction (PCR), TaqMan *Salmonella*, and Transia Card *Salmonella* assays for detection of *Salmonella* spp. in naturally-contaminated ground chicken, ground turkey, and ground beef. **Molecular Cellular Probes**, v.17, n.5, p.215-221, 2003.

GLENN, L.M.; LINDSEY, R.L.; FOLSTER, J.P.; WHICHARD, J.M.; PECIC, G.; BOERLIN, P.; GILMOUR, M. W.; McDERMOTT, P.F.; HARBOTTLE, H.; FEDORKA-CRAY, P.J.; FRYE, J.G. Antimicrobial resistance genes in multi-drug resistant *Salmonella*

enterica serovars isolated most frequently from animals, retail meat, and humans in the U.S. and Canada. **Microbiol Drug Resistance**, v.19, n.3, jun., p.175–184, 2013.

GUARDABASSI, L.; JENSEN, L. B.; KRUSE, H. **Guia de antimicrobianos em veterinária**. Porto Alegre: Artmed, 2010. 268 p.

GUERRA, B.; SOTO, M. M.; ARGÜELLES, J. M.; MENDOZA, C. Multidrug Resistance Is Mediated by Large Plasmids Carrying a Class 1 Integron in the Emergent *Salmonella enterica* Serotype [4,5,12:i:2]. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 45, n. 4, abr., p. 1305–1308, 2001.

HUR, J.; JAWALE, C.; LEE, J.H. Antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from food animals: A review. **Food Research International**, v.45, n.2, p. 819–830, 2012.

KHACHATRYAN, A. R., T. E. BESSER, D. D. HANCOCK, AND D. R. CALL. Use of a nonmedicated dietary supplement correlates with increased prevalence of streptomycin-sulfatetracycline-resistant *Escherichia coli* on a dairy farm. **Applied Environmental Microbiology**, v.72, n.7, p.4583–4588, 2006.

KELLY, B. G.; VESPERMANN, A.; BOLTON, D. J. The role of horizontal gene transfer in the evolution of selected foodborne bacterial pathogens. **Food and Chemical Toxicology**, v. 47, n.5, p. 951-968, 2009.

KIM, M. S.; LIM, T. H.; JANG, J. H.; LEE, D. H.; KIM, B. Y, KWON, J. H.; CHOI, S. W.; NOH, J. Y.; HONG, Y. H.; LEE, S. B.; YANG, S. Y.; LEE, H. J.; LEE, J. B.; PARK, S. Y.; CHOI, I. S.; SONG, C. S. Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* species isolated from chicken meats produced by different integrated broiler operations in Korea. **Poultry Science**, v.91, n.9, p.2370–2375, 2012.

KOTTWITZ, L. B. M.; SCHEFFER, M. C.; COSTA, L. M. D.; LEÃO, J. A.; BACK, A.; RODRIGUES, D. P.; MAGNANI, M.; OLIVEIRA, T. C. R. M. Perfil de resistência a antimicrobianos, fagotipagem e caracterização molecular de cepas de *Salmonella* Enteritidis de origem avícola. **Semina: Ciências Agrárias**, v.33, n.2, p.705-712, 2012.

LU, Y.; ZHAO, H.; SUN, J.; LIU, Y.; ZHOU, X.; BEIER, R.C.; WU, G.; HOU, X. Characterization of Multidrug-Resistant *Salmonella enterica* Serovars Indiana and Enteritidis from Chickens in Eastern China. **Plosone**, v. 9, n.5, e96050, 2014.

MA, M.; WANG, H.; YU, Y.; ZHANG, D.; LIU, S. Detection of antimicrobial resistance genes of pathogenic *Salmonella* from swine with DNA microarray. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.19, p.161–167, 2007.

MATIELLO, S.P.; DRESCHER, G.; BARTH JR, V.C.; FERREIRA, C.A.S.; OLIVEIRA, S.D. Characterization of antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* strains isolated from Brazilian poultry production. **Antonie van Leeuwenhoek**, v.108, n.5, p.1227–1238, 2015.

MARSHALL, B. M; LEVY, S.B. Food Animals and Antimicrobials: Impacts on Human Health. **Clinical microbiology reviews**, v. 24, n. 4, p. 718–733, 2011.

MEDEIROS, M. A. N.; OLIVEIRA, D. C. N.; RODRIGUES, D. P.; FREITAS, D. R. C. Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* in chicken carcasses at retail in 15 Brazilian cities. **Revista Panamericana de Salud Publica**, v.30, n.6, p.555–60, 2011.

MINHARRO, S.; NASCIMENTO, C. A.; GALLETI, J. P.; MERISSE, T. J.; FEITOSA, A. C. F.; SANTOS, H. D.; DIAS, F. E. F.; SANTANA, E. S.; BALDANI, C. D.; ANDRADE, M. A. Antimicrobial susceptibility of *Salmonella* serovars isolated from edible offal and carcasses of slaughtered poultry in the state of Tocantins, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.36, n.4, p.2661-2670, jul./ago., 2015.

MORAES, D.M.C.; ANDRADE, M.A.; REZENDE, C.S.M.; BARNABÉ, A.C.DE S.; JAYME, V. DE S.; NUNES, I.A. BAPTISTA, D. DE A. Fontes de infecção e perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos de *Salmonella* sp. isoladas no fluxo de produção de frangos de corte. **Arquivos Instituto Biológico**, v.81, n.3, p. 195-201, 2014.

PANDINI, J.A.; PINTO, F.G.S.; MULLER, J.M.; WEBER, L.D.; MOURA, A C.de. Ocorrência e perfil de resistência antimicrobiana de sorotipos de *Salmonella* spp. isolados de aviários do Paraná, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.82, p.1-6, 2015.

POUGET, J.G.; COUTINHO, F.J.; REID-SMITH, R.J.; BOERLIN, P. Characterization of *bla*SHV Genes on Plasmids from *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* Isolates from Canadian Food Animals (2006-2007). **Applied and Environmental Microbiology**, v.79, n.12, p. 3864–3866, 2013.

PUBLIC HEALTH ENGLAND - PHE. **Gastrointestinal Infections Data. Salmonellosis, 2014.** Disponível em: https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/337647/Salmonella_surveillance_tables.pdf. Data de acesso: 03 nov. 2015.

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

ROWLANDS, R. E.; RISTORI, C. A.; IKUNO, A. A.; BARBOSA, M. L.; JAKABI, M.; FRANCO, B. D. G. M. Prevalence of drug resistance and virulence features in *Salmonella* spp. isolated from foods associated or not with salmonellosis in Brazil. **Revista do Instituto Medicina Tropical**. v.56, n.6, p.461-467, 2014.

SCUR, M. C.; PINTO, F. G. S.; BONA, E. A. M.; WEBER, L. D.; ALVES, L. F. A.; MOURA, A. C. Occurrence and antimicrobial resistance of *Salmonella* serotypes isolates recovered from poultry of Western Paraná, Brazil. **African Journal of Agricultural Research**, v.9, n.9, p. 823-830, 2014.

SILVA, K.C. *Monitoramento dos mecanismos de resistência em Salmonella e Escherichia coli isoladas de animais de produção agropecuária e alimentos derivados*. Dissertação – Programa de Pós-Graduação em Microbiologia. Universidade de São Paulo Instituto de Ciências Biomédicas, São Paulo, p.38-39, 2011.

SILVA, E. N., DUARTE, A. *Salmonella* Enteritidis em Aves: Retrospectiva no Brasil. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.4, n.2, mai.-ago., p.085 – 100, 2002.

SILVA, K.C. DA; LINCOPAN, N. Epidemiologia das betalactamases de espectro estendido no Brasil: impacto clínico e implicações para o agronegócio. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboral**, v. 48, n. 2, p. 91-99, abr., 2012.

- SILVA, J.M.B.; HOLLENBACH, C.B. Fluoroquinolonas x resistência bacteriana na medicina veterinária. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.77, n.2, p.363-369, 2010.
- SILVA, K. C.; FONTES, L. C.; MORENO, A. M.; ASTOLFI-FERREIRA, C. S.; FERREIRA, A. J. P.; LINCOPAN, N. Emergence of Extended-Spectrum-Lactamase CTX-M-2-Producing *Salmonella enterica* Serovars Schwarzengrund and Agona in Poultry Farms. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.57, n.7, p. 3458–3459, 2013.
- SJOLUND-KARLSSON, M.; HOWIE, R.; RICKERT, R.; KRUEGER, A.; THUY, T.; TRAN, T.; ZHAO, S.; BALL, T.; HARO, J. Plasmid-mediated quinolone resistance among non-typhi *Salmonella enterica* isolates, USA. *Emerging Infectious Disease Journal*, n.16, p.1789-1791, 2010.
- SOUZA, R. B.; FERRARI, R. G.; MAGNANI, M.; KOTTWITZ, L. B. M.; ALCOCER, I.; TOGNIM, M. C. B.; OLIVEIRA, T. C. R. M. Ciprofloxacin susceptibility reduction of *Salmonella* strains isolated from outbreaks. **Brazilian Journal of Microbiology**, p.41, p.497-500, 2010a.
- SOUZA, R. B. DE; 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., 2010b.
- SOUZA, R. B.; MAGNANI, M.; FERRARI, R. G.; KOTTWITZ, L. B. M.; SARTORI, D.; TOGNIM, M. C. B.; OLIVEIRA, T. C. R. M. Detection of quinolone-resistance mutations in *Salmonella* spp. strains of epidemic and poultry origin. **Brazilian Journal of Microbiology**, n.42, p.211-215, 2011.
- THAKER, M.; SPANOGIANNOPOULOS, P.; WRIGHT, G.D. The tetracycline resisto-me. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v.67, n.3, p.419–431, 2010.
- THAI, T.H.; HIRAI, T.; LAN, N.T.; YAMAGUCHI, R. Antibiotic resistance profiles of *Salmonella* serovars isolated from retail pork and chicken meat in North Vietnam. **International Journal of Food Microbiology**, v.156, n.2, p.147–151, 2012.
- UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE – USDA. **Foodborne illness cost calculator: *Salmonella*, 2013**. Disponível em: <http://www.ers.usda.gov/data-products/cost-estimates-of-foodborne-illnesses.aspx#48446> Acesso: 30 set. 2015.
- U. S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION – FDA. **National Antimicrobial Resistance Monitoring System (NARMS): retail meat report 2012**. 88p. Disponível em: <http://www.fda.gov/AnimalVeterinary/SafetyHealth/AntimicrobialResistance/NationalAntimicrobialResistanceMonitoringSystem/ucm059103.htm> Acesso em: 28 abr. 2015
- VOSS-RECH, D.; VAZ, C.L.; ALVES, L.; COLDEBELLA, A.; LEÃO, J.A.; RODRIGUES, D.P.; BACK, A. A temporal study of *Salmonella enterica* serotypes from broiler farms in Brazil. **Poultry Science**, v.94, n.3, p.433-441, 2015.

VUGIA, D. J.; SAMUEL, M.; FARLEY, M. M.; MARCUS, R.; SHIFERAW, B.; SHALLOW, S.; SMITH, K.; ANGULO, F.J. Invasive *Salmonella* infections in the United States, FoodNet, 1996-1999: incidence, serotype distribution, and outcome. **Clinical infectious diseases**, v.38, n.3, p.149-156, 2004.

WANG, Y.C.; CHANG, Y.C.; CHUANG, H.L.; CHIU, C.C.; YEH, K.S.; CHANG, C.C.; HSUAN, S.L.; CHEN, T.H. Antibiotic resistance, integrons and *Salmonella* genomic island 1 among *Salmonella* Schwarzengrund in broiler chicken and pig. **African Journal of Microbiology Research**, v.4, n.9, p. 677-681, 2010.

WANG, Y.; YANG, B.; ZHANG, Z.; MENG, X.; XI, M.; WANG, X.; XIA, X.; SHI, X.; WANG, D.; MENG, J. Molecular characterization of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis on retail raw poultry in six provinces and two National cities in China. **Food Microbiology**, v.46, p.74-80, 2015.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Antimicrobial resistance: global report on surveillance**. Who Library Cataloguing, 2014. 256p. Disponível em: <http://www.who.int/drugresistance/documents/surveillancereport/en/> Acesso em: 01 abr. 2015.

6 ARTIGO C

FATORES ASSOCIADOS À CONTAMINAÇÃO POR *Salmonella* spp. E COLIFORMES TERMOTOLERANTES EM CARÇAÇAS DE FRANGOS DE ABATEDOUROS ARTESANAIS NA REGIÃO NORTE DO MARANHÃO

FACTORS ASSOCIATED WITH *Salmonella* spp. AND THERMOTOLERANTS COLIFORMS CONTAMINATION IN POULTRY CARCACASS FROM SMALL-SCALE BROILER SLAUGHTERHOUSES IN NORTH REGION OF MARANHÃO

RESUMO

A carne de frango é um dos principais veiculadores de patógenos causadores de infecções alimentares, especialmente da bactéria *Salmonella*. A contaminação da carne de frango está associada a vários fatores relativos ao abate das aves e processamento da carne. O presente estudo objetivou avaliar a contaminação por *Salmonella* spp. e por micro-organismos indicadores de qualidade higiênica em carcaças de frango, assim como identificar os fatores associados a contaminação por *Salmonella*. Realizou-se um estudo epidemiológico transversal em 85 abatedouros artesanais de frangos de corte localizados em mercados públicos da Mesorregião Norte do Estado do Maranhão, onde foram avaliados os procedimentos de abate através de um inquérito epidemiológico. Foram coletadas 85 carcaças de frango desses estabelecimentos e avaliadas quanto a contagem padrão de micro-organismos aeróbios mesófilos, o Número Mais Provável (NMP) de coliformes termotolerantes e pesquisa de *Salmonella* spp. Os resultados da contaminação por *Salmonella* foram associados aos fatores relacionados aos procedimentos de abate. Das amostras analisadas, 45 (52,9%) estavam contaminadas por *Salmonella* spp., 83 (97,6%) por coliformes termotolerantes, com contagem mínima de 10^1 e máxima de 10^8 NMP/g; e a contaminação por bactérias mesófilas com contagens mínima de 10^2 e máxima acima de 10^8 UFC/g. Os fatores associados ($p \leq 0,05$) com a contaminação de *Salmonella* nas carcaças foram a presença de aves vivas na área de processamento ($p=0,041$), contaminação fecal visível durante a evisceração ($p=0,002$); resíduos de penas ($p=0,001$); resíduos de vísceras na bancada de evisceração ($p=0,045$) e contato entre carcaças durante o processamento ($p=0,007$). Conclui-se que as carcaças de frango obtidas do abate artesanal avaliados apresentavam as condições higiênicas deficientes e risco de veiculação de *Salmonella* para os consumidores, com a necessidade de treinamento dos manipuladores em boas práticas de manipulação para melhorias no controle sanitário do produto ofertado.

Palavra-chave: abate; aves; manipuladores; evisceração; mesófilos.

ABSTRACT

Poultry meat is one of the main carriers of pathogens that cause foodborne illness, especially *Salmonella*. The contamination of poultry meat is related to several factors relating to the poultry slaughter and meat processing. This study aimed to evaluate the contamination by *Salmonella* spp. and micro-organisms hygienic quality indicators in chicken carcasses, as well

as identify the risk factors of chicken slaughtering associated with *Salmonella* contamination. We conducted cross-sectional epidemiological study in 85 small-scale broiler slaughterhouses, located in public markets of the North Regions of Maranhão State, which were evaluated harvesting procedures through an epidemiological investigation. Chicken carcasses were collected from these establishments and evaluated for standard to the mesophilic aerobic microorganisms, the thermotolerants coliforms and *Salmonella* spp. The contamination with *Salmonella* were associated with factors related to slaughtering procedures. Of the 85 samples tested, 45 (52.9%) were contaminated with *Salmonella* spp., 83 (97.6%) of thermotolerants coliforms contaminations minimum count of 10^1 and maximum 10^8 NMP/ g contamination with mesophilic bacteria contamination with minimal counts 10^2 and maximum above 10^8 UFC/g. Associated factors ($p = 0.05$) with the contamination of *Salmonella* in carcasses were the presence of live birds in the processing area ($p = 0.041$), visible fecal contamination during evisceration ($p = 0.002$); Feather waste ($p = 0.001$); waste viscera in evisceration bench ($p = 0.045$) and contact between carcasses during processing ($p = 0.007$). The results show that the chicken carcasses obtained from craft slaughter and marketed in markets assessed had the poor hygienic conditions and risk of transmission of *Salmonella* to consumers, with the need for training of food handlers in safe handling practices for improvement in health control product offered.

Key-words: slaughter; poultry; contamination; evisceration; mesophilic.

Introdução

A carne de frango é uma das principais fontes de proteína animal em todo mundo e seu consumo tem aumentado progressivamente (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURA - USDA, 2014). Esse alimento tornou-se um dos principais veiculadores de patógenos causadores de infecções alimentares, especialmente da bactéria *Salmonella* (FOLEY et al., 2013). Esse agente é responsável por expressivas taxas de morbidade em vários países, sendo o principal agente etiológico de surtos de doenças de origem alimentar no Brasil (BRASIL, 2015; TESSARI et al., 2012).

A presença da *Salmonella* na carne de frango está relacionada a vários fatores da cadeia produtiva que envolvem a complexa epidemiologia da bactéria. A contaminação de *Salmonella* spp. em carcaças de frangos tem sido frequentemente pesquisada em abatedouros de várias regiões no Brasil, com ocorrência variando de 1 a 50% (BONI; CARRIJO; FASCINA, 2011; PANZENHAGEN et al., 2016; PENTEADO; ESMERINO, 2011; TESSARI et al., 2008; TIROLI e COSTA, 2006) De modo geral, as salmoneloses aviárias de impacto para saúde pública são consideradas de difícil controle na avicultura mundial, possibilitando a presença de aves infectadas na idade de abate (ANDREATTI et al., 2009; CARDOSO et al., 2013). A presença da *Salmonella* na pele, penas, pés, cloaca e trato digestório das aves constitui-se um fator agravante para a indústria avícola e de

processamento de carne, pois o patógeno pode ser transferido para as carcaças, por meio de contaminações cruzadas das superfícies de contato e dos manipuladores de alimentos (COLLA et al., 2012).

A adoção de medidas higiênicas sanitárias baseadas no conhecimento dos perigos e pontos críticos de controle do patógeno, assim como nas boas práticas de fabricação dos alimentos pode prevenir de forma significativa a presença de micro-organismos indesejáveis na carne de frango (HUE et al., 2011). É constatado que nos abatedouros onde há o controle das operações de abate e de higiene aplicados as etapas consideradas críticas como escaldamento, depenagem, evisceração e resfriamento pode diminuir de forma gradual o nível de contaminação por *Salmonella* no fluxo de processamento e portanto, no produto final (OLSEN et al., 2003; RIVIERA-PEREZ, BARQUIO-CALVO; ZAMOURA-SANABRIA, 2014; SVOBODOVÁ et al., 2012).

A segurança e a qualidade dos alimentos, inclusive da carne *in natura*, pode ser estimada pela contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos e de coliformes termotolerantes, grupos considerados como indicadores (JAY, 2005). Para a carne de frango *in natura* comercializada no Brasil, os níveis de contaminação por coliformes termotolerantes é o único parâmetro de qualidade microbiológica para se considerar aceitável para o consumo (BRASIL, 2001). A contagem de coliformes pode estimar falhas na higiene durante o processamento e indicar contaminação de origem fecal, sendo que elevadas contagens desses micro-organismos podem estar relacionadas a elevados níveis de enteropatógenos (SIMAS et al., 2013).

O Brasil tornou-se um dos maiores produtores de carne de frango, com uma dinâmica de expansão da avicultura por todo país (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL - ABPA, 2015). A indústria avícola brasileira tem se difundido para as regiões Norte e Nordeste do Brasil, com implantação de estabelecimentos avícolas comerciais, no entanto, com a problemática de ainda conter poucas indústrias de abate e processamento da carne de frango (MINHARRO et al., 2015). O resultado é o aumento de produção de aves aliado ao aumento do número de abatedouros artesanais sem fiscalização sanitária, o que pode elevar o risco de transmissão de zoonoses para os consumidores (VIANA et al., 2014). Ademais, devido aos hábitos culturais regionais, há a preferência da população por carcaças recém abatidas, fato que contribui para perpetuação de estabelecimentos informais de abate de aves, pois gera oferta e procura pelo produto (BARROS; RIBEIRO; CASELLI, 2014; PASSOS et al., 2015).

Este estudo objetivou avaliar a contaminação por *Salmonella* spp. e micro-organismos indicadores de qualidade higiênica em carcaças de frangos obtidas de mercados públicos da Mesorregião Norte do Maranhão, assim como identificar os fatores associados à contaminação por *Salmonella*.

Material e Métodos

Durante o período de agosto de 2013 a abril de 2014, realizou-se um estudo epidemiológico observacional transversal em abatedouros artesanais de frangos, sem inspeção sanitária, localizados nas Microrregiões de Itapecuru-Mirim e Aglomeração Urbana de São Luís, Estado do Maranhão. Foram sorteados 15 mercados públicos dos municípios de São Luís (n=11), Paço do Lumiar (n=2), São José de Ribamar (n=1) e Itapecuru-Mirim (n=1), e realizado o mapeamento de 103 abatedouros de frangos existentes.

Elaborou-se um fluxo de processamento do abate artesanal das aves desses locais (**APÊNDICE B**) e adotou-se um *check list* adaptado do ANEXO II da RDC 275 da ANVISA (BRASIL, 2002) e Portaria 210 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA (BRASIL, 1998), para se obter informações sobre os aspectos do abate considerados de risco para contaminação microbiológica de carne de frango (**APÊNDICE C**).

Participaram da pesquisa estabelecimentos que abatiam entre 10 a 50 aves por dia e que continham até dois manipuladores da carne de frango. Em cada estabelecimento, procedeu-se o esclarecimento da pesquisa aos proprietários e naqueles em que houve concordância na participação, foi sorteado um manipulador, o qual foi observada suas práticas de abate artesanal durante 30 minutos.

Para cada estabelecimento avaliado, foi coletada uma amostra de carcaça de frango recém abatida, uma semana posterior a aplicação do inquérito epidemiológico. Todas as coletas foram realizadas no período da manhã e no terceiro ou quarto dia da semana, dias com menor fluxo de pessoas nos mercados públicos. As amostras foram transportadas, em caixas isotérmicas com gelo, para o Laboratório de Microbiologia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão (IFMA), onde foram imediatamente analisadas quanto a contagem padrão de micro-organismos aeróbios mesófilos, o Número Mais Provável (NMP) de coliformes termotolerantes e pesquisa de *Salmonella* spp., seguindo metodologia recomendada pelo MAPA (BRASIL, 1995, 2003a).

No laboratório, as amostras de carcaça foram analisadas pela técnica de lavagem superficial (COX et al., 1978). As carcaças de frango foram, primeiramente, pesadas

e então, transferidas, assepticamente, para um saco transparente estéril, onde foram adicionados 300 mL de água peptonada tamponada estéril a 1%. Depois, foram efetuadas massagens na carcaça com as mãos, por fora do saco, e a solução de enxaguadura transferida assepticamente para um frasco de vidro estéril (diluição 10^0). A partir dessa solução, foram realizadas diluições em série em água peptonada tamponada a 1% até a diluição 10^{-6} .

A contagem padrão de micro-organismos aeróbios mesófilos foi determinada pela técnica de semeadura em profundidade, utilizando-se os meios de cultura Plate Count Ágar (Himedia®) a 35°C por 48 horas. Foi realizada a contagem das colônias microbianas das placas e os resultados foram calculados e expressos em Unidades Formadoras de Colônia por grama (UFC/g). Para contagem de coliformes termotolerantes, foi utilizada a técnica de tubos múltiplos, realizando inicialmente a inoculação em meio Lauril Trissulfato de sódio (Himedia®), com incubação a 36°C por 24 a 48 horas. A partir dos tubos positivos na prova presuntiva, realizou-se a inoculação em Caldo EC e incubação em temperatura de 45°C por 48 horas. O resultado foi expresso em NMP/g de frango.

Para pesquisa de *Salmonella* spp., a solução de enxaguadura foi incubada a 37°C, durante 18 a 20 horas. A cultura pré-enriquecida foi homogeneizada e transferida na proporção 1:10 de caldo Selenito-Cistina (1mL/10mL) e 1:100 em caldo Rappaport Vassiliadis (0,1 mL /10mL), que foram incubados em 42°C durante 18 a 24 horas. Dos caldos de enriquecimento seletivo, as amostras foram semeadas em meios indicadores seletivos: ágar XLD, ágar Verde Brilhante, ágar *Salmonella Shigella* e Agar Hektoen. Os meios foram incubados a 37°C durante 24 horas e após este período foram observadas as características e o aspecto das colônias desenvolvidas nas placas (BRASIL, 1995 e 2003a). Após o isolamento das colônias suspeitas de *Salmonella* spp. foram submetidas às provas bioquímicas de urease, mobilidade em meio SIM, em ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI) e Agar Lisina Ferro (LIA). As cepas que apresentaram resultados característicos foram submetidas ao teste de aglutinação rápida com o soro antissomático “O” polivalente (Probac®).

Os resultados foram analisados por estatística descritiva através de frequências absoluta e relativa. A comparação das frequências dos resultados obtidos pelo inquérito foi realizada por meio de teste estatístico de qui quadrado com correção de Yates e teste Exato de Fisher e a magnitude das associações foi determinada pelo cálculo do *Odds Ratio* (OR). As análises foram realizadas no programa Epi Info™ (DEAN et al., 2000) e adotou-se nível de significância de 5%.

Resultados e Discussão

Dos 103 estabelecimentos de abate artesanal de frangos, houve a participação de 85 abatedouros na pesquisa. Os resultados obtidos em relação a análise microbiológica das carcaças de frangos dos estabelecimentos (Tabela 1) mostraram a contaminação por *Salmonella* spp. em 45 (52,9%) das 85 amostras avaliadas, presença de coliformes termotolerantes em 83 (97,6%) amostras, com contagem mínima de 10^1 e máxima de 10^8 NMP/g e contaminação por bactérias mesófilas com contagem mínima de 10^2 e máxima acima de 10^8 UFC/g.

Tabela 1 – Contaminação microbiológica de 85 carcaças de frango avaliadas dos abatedouros artesanais de frangos de mercados públicos do Estado do Maranhão, agosto/2013 a abril/2014

Contaminação microbiológica	Amostras			
	Frequência absoluta		Frequência relativa	
	n	n (acumulado)	n	n (acumulado)
<i>Salmonella</i>				
Ausência	40	40	47,1	47,1
Presença	45	85	52,9	100
Coliformes termotolerantes (NMP/g)				
Ausência	2	2	2,4	2,4
$10^1 - 10^2$	11	13	13,0	15,4
$10^2 - 10^3$	8	21	9,4	24,8
$10^3 - 10^4$	24	45	28,2	53,2
$10^4 - 10^5$	25	70	29,4	82,6
$10^5 - 10^6$	14	84	16,5	99,1
$10^5 - 10^8$	1	85	1,2	100,0
Bactérias aeróbias mesófilas (UFC/g)				
$10^2 - 10^3$	2	2	2,4	2,4
$10^3 - 10^4$	8	10	9,4	11,8
$10^4 - 10^5$	13	23	15,3	27,1
$10^5 - 10^6$	37	60	43,5	70,6
$10^6 - 10^7$	4	64	4,7	75,3
$10^7 - 10^8$	17	81	20,0	95,3
$> 10^8$	4	85	4,7	100,0

No tocante à *Salmonella*, a taxa de 45 (52,9%) amostras contaminadas foi superior a outras pesquisas de avaliação de carcaças obtidas de feiras e mercados dos estados da Bahia com 28% (17/60) (BARROS; RIBEIRO; CASELLI, 2014), São Paulo com 9,5% (6/65) (MALDONADO, 2008) e Pernambuco com 16,6% (4/24) (MOURA et al., 2010). Porém, os resultados assemelham-se aos de Tiroli e Costa (2006) que encontraram taxa de contaminação por *Salmonella* de 50% em 60 carcaças de frango recém-abatidos de feiras e mercados de Manaus.

A *Salmonella* é um importante agente causador de doenças de origem alimentar no país, capaz de provocar em seres humanos os sintomas como diarreia, dores abdominais e febre (GARCIA; DUARTE, 2014; BRASIL, 2015). Porém, desde de 2001, a ausência de *Salmonella* em 25 gramas de carne de frango *in natura* não faz parte dos padrões microbiológicos da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (BRASIL, 2001). Conforme a ANVISA, essa bactéria encontra-se difundida de forma crítica em aves vivas de corte em todo mundo, tornando-se difícil seu controle nos abatedouros industriais (BRASIL, 2000). Em abatedouros de aves sob serviço de inspeção federal do MAPA, a pesquisa de *Salmonella* em carcaças é uma análise laboratorial sistemática, servindo para medidas de controle desse patógeno em produtos para exportação. Através desta, a cada 51 carcaças de frango analisadas nos abatedouros para pesquisa de *Salmonella* spp., aceita-se 12 carcaças positivas ou 20% de positividade (BRASIL, 2003b). Em abatedouros artesanais, com destino do produto para comunidade local, a inexistência de medidas de controle de patógenos de origem alimentar e a falta de orientação do serviço de inspeção sanitária são fatores que podem contribuir para permanência de deficientes práticas higiênicas de abate e elevados índices de contaminação por *Salmonella* nos produtos ofertados. Os resultados encontrados em nosso estudo, alertam para necessidade de controle da *Salmonella* na cadeia produtiva de frangos e a intensificação da vigilância sob alimentos produzidos e comercializados em feiras e mercados, como forma a prevenir enfermidades aos consumidores.

A avaliação dos fatores relacionados às práticas rotineiras de abate artesanal dos frangos e o risco de contaminação de *Salmonella* nas carcaças recém abatidas estão apresentados na Tabela 2. Dentre os vários fatores avaliados, a análise estatística demonstrou significativa associação ($p \leq 0,05$) entre a contaminação de *Salmonella* e as seguintes variáveis: aves vivas na área de processamento, presença de contaminação fecal durante a evisceração; resíduos de penas na área de processamento; resíduos de vísceras na bancada de evisceração e contato entre carcaças durante o processamento.

Tabela 2 – Variáveis do abate artesanal de aves e sua associação estatística com a contaminação por *Salmonella* spp. em carne de frango provenientes de 85 estabelecimentos de mercados públicos do Estado do Maranhão, agosto/2013 a abril/2014

Variáveis	<i>Salmonella</i>	Odds ratio (IC* 95%)	Valor de <i>p</i> **
	Amostras positivas/Total (%)		
Higiene das instalações			
Sim	21/46 (45,6)	1,90	0,213
Não	24/39 (61,5)	(0,79 – 4,53)	
Aves vivas na área de produção			
Presença	42/72 (58,3)	4,66	0,041
Ausência	3/13 (23,7)	(1,18 – 18,41)	
Utensílios			
Satisfatórios	21/43 (48,8)	1,39	0,582
Insatisfatórios	24/42 (57,1)	(0,59 – 3,28)	
Equipamentos			
Satisfatórios	24/51 (47,0)	1,81	0,267
Insatisfatórios	21/34 (61,7)	(0,75 – 4,39)	
Pragas			
Presente	20/29 (68,9)	2,75	0,057
Ausente	25/56 (44,6)	(1,06 – 7,10)	
Jejum pré-abate			
Sim	27/51 (52,9)	1,0	0,824
Não	18/34 (52,9)	(0,41 – 2,38)	
Renovação da água de escaldagem			
Sim	1/6 (16,6)	6,28	0,159
Não	44/79 (55,6)	(0,70 – 56,30)	
Contaminação fecal visível			
Sim	23/30 (76,6)	4,92	0,002
Não	22/55 (40,0)	(1,80 – 13,44)	
Acúmulo de penas			
Sim	39/60 (65,0)	5,8	0,001
Não	6/25 (24,0)	(2,03 – 16,97)	
Acúmulo de vísceras			
Sim	23/34 (67,6)	2,72	0,045
Não	22/51 (43,1)	(1,11 – 6,82)	
Contato entre carcaças			
Sim	30/41 (73,1)	5,27	0,0007
Não	15/44 (34,0)	(2,07 – 13,37)	
Uso de vestuário			
Adequado	9/20 (45,0)	1,51	0,577
Inadequado	36/65 (53,3)	(0,55 – 4,15)	
Asseio pessoal			
Sim	7/17 (41,1)	1,80	0,190
Não	38/68 (55,8)	(0,81 – 5,72)	
Hábitos higiênicos			
Sim	9/23 (39,1)	2,15	0,190
Não	36/62 (58,0)	(0,81 – 5,72)	

* intervalo de confiança; ** Usado o teste χ^2

No abatedouro, a proximidade das aves vivas com a área de processamento e comercialização do produto é um fator importante para contaminação da carne. Em 72 (84,7%) estabelecimentos de abate avaliados, não havia a separação entre a área de acomodação das aves vivas (em gaiolas ou em pequenos boxes) e a área de processamento e comercialização da carne. As aves vivas que chegam ao abatedouro são fontes iniciais de contaminação de *Salmonella* e através de suas fezes e penas, pode ocorrer considerável contaminação bacteriana do ambiente de recepção e espera das aves (OLIVEIRA et al., 2011; VON RÜCKERT et al., 2009). Estudos comprovam elevados níveis de contaminação por *Salmonella* em gaiolas de transporte e área de recebimento e permanência das aves vivas de abatedouros (CORRY et al., 2002; OLSEN et al., 2003; SANTOS et al., 2015) e está associada a excreção da bactéria por estresse resultante do transporte e do jejum pré abate (ARSENAULT et al., 2007; CARDOSO; TESSARI, 2008). Em estudo sobre a contaminação cruzada de *Salmonella* na linha de abate de aves, Olsen et al. (2003) constataram que as áreas de recebimento das aves de abatedouros tiveram maior isolamento por *Salmonella* e que o nível de contaminação diminuía ao longo do fluxo de processamento de abate. Os achados do estudo reforçam a importância da separação dos procedimentos da área considerada “suja” da área considerada “limpa”, como forma de reduzir o risco de contaminação cruzada.

No presente estudo realizou-se a observação na etapa de evisceração manual, os cuidados do manipulador de realizar manualmente a exposição e retirada das vísceras sem rompimento destas. A presença visível de conteúdo fecal nas carcaças por meio da evisceração descuidada foi associada (OR=4,92; $p=0,002$) à presença de *Salmonella* na carcaça. Segundo Almeida e Silva (1992), em geral, todas as operações de abate podem resultar em contaminação microbiológica cruzada por *Salmonella* spp., sendo a contaminação intestinal uma fonte mais comum do que a cutânea. Quando mal executada pelo manipulador, a evisceração manual torna-se um ponto crítico de disseminação de micro-organismos intestinais nas carcaças e contaminações cruzadas por meio de utensílios, mãos de manipuladores e equipamentos (RIVIERA-PEREZ et al., 2014; VON RUCKERT et al., 2009).

Em estudo sobre a presença de *Salmonella* na linha de abate de abatedouros avícolas com inspeção sanitária, Stoppa (2011) encontrou acentuadas diferenças percentuais na taxa de isolamento de *Salmonella* em abatedouro que adotava a evisceração mecanizada (2%) e que adotava evisceração manual (85%), apontando o método e a falta de cuidado do operador nos procedimentos de evisceração como os possíveis influenciadores. Arsenault et al. (2007) estudaram os fatores de risco para presença de *Salmonella* em abatedouros de perus

e a contaminação fecal visível sob as carcaças foi associada significativamente com a percentagem de carcaças contaminadas por *Salmonella* e com lotes de aves com conteúdo digestivo no íleo, no momento do abate. Conforme os autores, estes resultados apoia a hipótese de que a contaminação da carcaça ocorre a partir da disseminação das bactérias já existentes no aparelho digestório das aves.

Jiménez et al. (2002) e Smith et al. (2007) postularam que as bactérias *Salmonella* disseminadas para a carcaça a partir da contaminação fecal na evisceração são fracamente ligadas à superfície da pele, pois o processo de ligação é dependente do tempo e do tipo de tecido corporal. O que pode aumentar a incidência da presença do patógeno nas carcaças com contaminação visível é a lavagem subsequente devido à contaminações cruzadas.

O jejum pré-abate dos animais de corte é um manejo adotado para prevenir o risco de contaminação por conteúdo fecal na linha de abate e facilitar a evisceração. Em 34 (40%) dos estabelecimentos avaliados, não se adotava o jejum pré-abate das aves, justificado pela permanência por até três dias nos estabelecimentos. Naqueles em que as aves passavam pelo jejum (n=51), não havia controle do período de tempo de restrição alimentar até o abate. Apesar da ausência do jejum pré-abate não ter sido associado (OR = 1,0; $p = 0,824$) com a presença de *Salmonella*, essa variável foi significativamente associada (OR= 2,92; IC 95% = 1,16 – 7,34; $p = 0,037$) com a contaminação fecal das carcaças. O jejum pré-abate precisa ser criteriosamente observado, uma vez que a ausência deste facilita o rompimento intestinal por não esvaziamento completo do trato gastrointestinal das aves e períodos demasiadamente prolongados tornam as vísceras mais frágeis e suscetíveis a ruptura (MENDES, 2001).

O acúmulo de penas e vísceras na bancada de processamento foram fatores com significativa associação (penas: OR = 5,8 e $p = 0,001$; vísceras: OR = 2,7 e $p = 0,045$) com a presença da *Salmonella*. As penas e o trato gastrointestinal das aves são as fontes potenciais de *Salmonella* capazes de provocar contaminações cruzadas através das superfícies de contato (RUSSEL, 2012). A área e as depenadeiras são frequentemente associadas com a contaminação cruzada por *Salmonella*, seja pela contaminação ambiental ou pela superfície de contato com as carcaças (GÖKSOY, KIRKAN; KÖK, 2004; NDE et al., 2007; RASSCHAERT; HOUF; ZUTTER, 2007). O excesso de penas próximo as depenadeiras mecânicas foi uma realidade predominante (70,6%) nos abatedouros artesanais, indicando falhas na higienização ambiental e possivelmente falhas na higienização dos equipamentos. É difícil conseguir contagens bacterianas baixas na pele e penas das aves destinadas ao abate, visto que essas bactérias consistem na microflora nativa dos frangos de corte, concebida a

partir do ambiente de criação (RUSSEL, 2012). Assim, a ênfase deve ser colocada sobre a higiene na linha de abate.

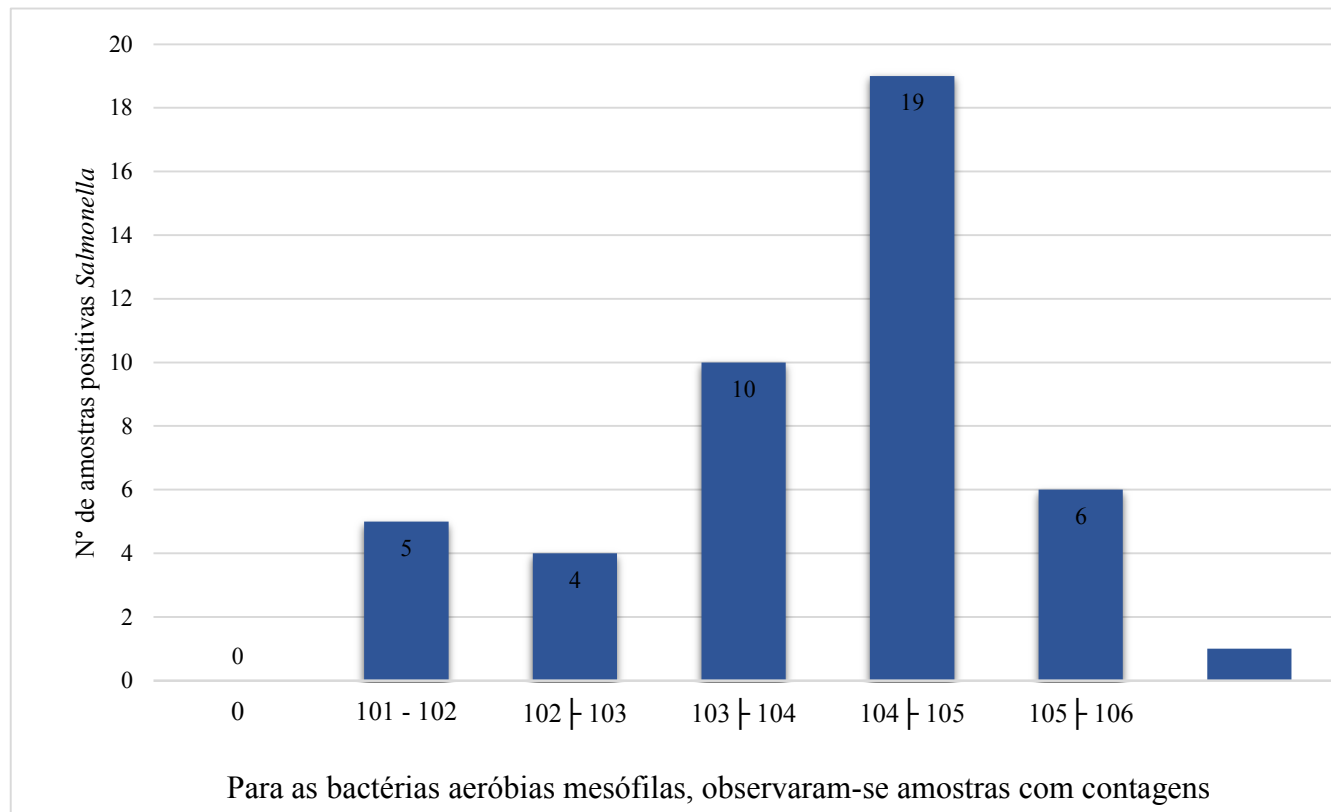
O amontoamento das carcaças durante o processo de depenagem e evisceração permitiu o maior contato entre as mesmas, aumentando 5,27 vezes as chances de positividade de *Salmonella* nas carcaças avaliadas (Tabela 2). Estudos reportam que o nível de contaminação de bactérias entéricas aumenta com o contato entre as carcaças durante o processamento (ARSENAULT et al., 2007; NORTCHUTT et al., 2006). O abate industrial as carcaças são penduradas em trilhagem aérea, evitando o contato entre elas. Em abatedouros de pequena escala, o processamento das carcaças é realizado de forma manual e com repetitivo contato com as mesas de trabalho e entre as carcaças, o que facilita as contaminações cruzadas (SILVA, 2010).

A contaminação por grupo dos coliformes termotolerantes esteve presente em 96,4% das amostras, com contagens alcançando até 10^8 NMP/g (Tabela 1). Para a ANVISA, que estabelece o padrão microbiológica aceitável em alimentos destinados ao consumo humano no Brasil, a contagem de até 10^4 NMP/g do grupo dos coliformes termotolerantes por grama é o único parâmetro de qualidade para carnes de aves “in natura” resfriadas e congeladas (BRASIL, 2001). Utilizando-se esse parâmetro, visto que não há padrão para carnes mantidas em temperatura ambiente, verificou-se que 40 (47,05%) amostras de carcaças apresentaram contagens de coliformes termotolerantes variando de 10^4 a 10^8 NMP/g, ou seja, em condições consideradas inaceitáveis para comercialização. Os resultados encontrados assemelham-se aos de Moura Filho et al. (2010) que verificaram 41% de carcaças com contagens de coliformes termotolerantes acima do preconizado pela ANVISA, em abatedouros artesanais de frangos presentes na Região Metropolitana de Recife. Os resultados encontrados indicam falhas no controle higiênico sanitário, o que reflete a insuficiente higiene e desinfecção da linha de abate, assim como as falhas nas práticas de controle por parte dos manipuladores.

Foi avaliada a presença de *Salmonella* em relação ao nível de contaminação por coliformes termotolerantes nas carcaças dos estabelecimentos (Figura 1). Em nosso estudo, todas as amostras positivas para *Salmonella* apresentou contaminação por coliformes termotolerantes, sendo que a maior positividade (n=19) ocorreu na contagem de coliformes termotolerantes de 10^4 a 10^5 NMP/g. Não foi observada diferença significativa entre a contaminação por *Salmonella* e a contagens aceitáveis de coliformes termotolerantes ($p = 0,0989$) na carne de frango. Portanto, nas condições do abate artesanal em nosso estudo, tem-

se a assertiva de que os elevados níveis de contaminação fecal nem sempre estão relacionados com os níveis de contaminação por enteropatógenos como *Salmonella*.

Figura 1 – Número de amostras positivas para *Salmonella* de acordo com o nível de contaminação por coliformes termotolerantes em 85 carcaças provenientes de abatedouros artesanais do Estado do Maranhão, agosto/2013 a abril/2014



acima 10^8 UFC/g. A contagem de micro-organismos mesófilos serve como indicativo da excessiva contaminação do alimento analisado, o que pode diminuir a tempo de vida útil do produto (SILVA et al., 2007). O abate de frangos de forma artesanal requer uma série de etapas de manipulação da carne, possibilitando a contaminação por diversos microrganismos oriundos da própria ave ou do ambiente do abatedouro através do manipulador e das superfícies de contato. As deficientes práticas de higiene durante manipulação aliadas a manutenção das carcaças em temperatura ambiente durante a comercialização dos produtos nos mercados podem ter permitido condições favoráveis para a contaminação e o desenvolvimento de bactérias mesófilas na carne de frango, justificando as elevadas contagens encontradas nos produtos.

Conclusão

As carcaças de frango obtidas do abate artesanal e comercializadas nos mercados avaliados apresentaram as condições higiênicas deficientes e risco de veiculação de *Salmonella* para os consumidores. A proximidade das aves vivas à área de processamento, o acúmulo de resíduos da depenagem e da evisceração, a falta de cuidado do manipulador nas operações de evisceração e o contato demasiado entre as carcaças durante o processamento foram fatores que aumentaram a chance de contaminação por *Salmonella* no produto final. Esses dados reforçam a importância do monitoramento sanitário e orientações educacionais por parte dos órgãos competentes quanto ao abate e comercialização da carne de frango em mercados públicos regionais.

Agradecimentos

Agradecemos a Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Científico do Maranhão (FAPEMA), a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão (IFMA) pelo financiamento da pesquisa.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, P. F.; SILVA, E. N. Estudos sobre o controle e disseminação bacteriana em carcaças de frangos de abatedouros industriais. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.44, n.2, p.105-120, 1992.
- ANDREATTI FILHO, R. L.; LIMA, E. T.; MENCONI, A.; ROCHA, T. S.; GONÇALVES, G. A. M. Pesquisa de *Salmonella* spp. em suabes de arrasto provenientes de granjas avícolas. **Veterinária e Zootecnia**, v.16, n.1, p.190-194, 2009.
- ARSENAULT, J.; LETELLIER, A.; QUESSY, S.; BOULIANNE, M. Prevalence and risk factors for *Salmonella* and *Campylobacter* spp. carcass contamination in broiler chickens slaughtered in Quebec, Canada. **Journal of Food Protection**, v.70, n.8, p.1820-1828, ago., 2007.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL – ABPA. **Relatório Anual de 2015**. Disponível em: <http://www.brazilianchicken.com.br/home/publicacoes>. Acesso em: 02 de janeiro de 2015.
- BARROS, L.S.S.; RIBEIRO, J.G.N.; CASELLI, J.B. *Salmonella* spp. Lignieres 1900 (Enterobacterales: Enterobacteriaceae) in informally sold broilers. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v.08, n.4, p.1-21, 2014.

BONI, H. F. K.; CARRIJO, A. S.; FASCINA, V. B. Ocorrência de *Salmonella* spp. em aviários e abatedouro de frangos de corte na região central de Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.12, n.1, p.84-95, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº. 275, de 21 de outubro de 2002. Regulamento Técnico de procedimentos operacionais padronizados aplicados aos estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos e à lista de verificação das boas práticas de fabricação em estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 23 out. 2002, Seção 1, p.126.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Consulta Pública - CP, nº 49, de 13 de julho de 2000. Regulamento técnico para instruções de uso, preparo e conservação na rotulagem de carnes e miúdos de aves crus, resfriados ou congelados. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 17 jul. 2000, nº136-E, Seção 1.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 10 jan. 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Portaria DSA nº. 8, de 23 de janeiro de 1995. Método Analítico de Carcaças de Aves e Pesquisa de *Salmonella*. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 10 out. 1995. Seção 1, p. 10.

BRASIL. Ministério de Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Portaria nº 210, de 10 de novembro de 1998. Regulamento Técnico da Inspeção Tecnológica e Higiênico-Sanitária de Carne de Aves. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 1998.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº62 de 26 de agosto de 2003. Oficializa os métodos analíticos oficiais de análise microbiológicas de para controle de produtos de origem animal e água. **Diário oficial da União**. Brasília, DF, 18 set. 2003a, seção 1, p.14.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 70, de -6 de outubro de 2003. Institui o Programa de Redução de Patógenos – Monitoramento Microbiológico e Controle de *Salmonella* sp. em carcaças de frangos e perus. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 10 out. 2003b. Seção 1, p.9.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Doenças transmitidas por alimentos**. 2015. Disponível em: <http://u.saude.gov.br/images/pdf/2015/novembro/09/Apresenta---o-dados-gerais-DTA>. Acesso em: 30 jan. 2016

CARDOSO, A. L. S. P.; KANASHIRO, A. M. I.; STOPPA, G. F. Z.; CASTRO, A. G. M.; LUCIANO, R. L.; TESSARI, E. N. C. Prevalência de *Salmonella* Enteritidis isoladas de suabes de arrasto em granjas de frangos de corte. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. Ano XI, n.20, janeiro, 2013.

CARDOSO, A.L.S.P.; TESSARI, E.N.C. Salmonela na segurança dos alimentos. **Biológico**, São Paulo, v.70, n.1, p.11-13, 2008.

COLLA, F.L.; RODRIGUES, L.B.; BORSOI, A.; DICKEL, E.L.; NASCIMENTO, V.P.; SANTOS, L.R. Isolamento de *Salmonella* Heidelberg em diferentes pontos da tecnologia de abate de frangos de corte. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.79, n.4, p.603-606, out./dez., 2012.

CORRY, J. E. L., V. M. ALLEN, W. R. HUDSON, M. F. BRESLIN, AND R. H. DAVIES. Sources of *Salmonella* on broiler carcasses during transportation and processing: modes of contamination and methods of control. **Journal Applied Microbiology**. v.92, n.3, p.424–432, 2002.

COX, N. A.; MERCURI, A. J.; TANNER, D. A.; CARSON, M. O.; THOMSON, J. E.; BAILEY, J. S. Effectiveness of sampling methods for *Salmonella* detection on processed broilers. **Journal of Food Protection**, v. 41, p. 341-343, 1978.

DEAN, A.G.; ARNER, T.G.; SANGAM, S.; SUNKI, G.G.; FRIEDMAN, R.; LANTINGA, M.; ZUBIETA, J.C.; SULLIVAN, K.M.; SMITH, D.C. Epi Info 2000, a database and statistics program for public health professionals for use on Windows 95, 98, NT, and 2000 computers. Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, USA, 2000.

FOLEY, S.L.; JOHNSON, T.J.; RICKE, S.C.; NAYAK, R.; DANZEISEN, J. *Salmonella* Pathogenicity and host adaptation in chicken-associated serovars. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v.77, n.4, p.582-607, 2013.

GARCIA, D.P.; DUARTE, D.A. Perfil epidemiológico de surtos de doenças transmitidas por alimentos ocorridos no Brasil. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v.6, n.1, p.545-554, 2014.

GÖKSOY, E.O.; KIRKAN, S.; KÖK, F. Microbiological Quality of Broiler Carcasses During Processing in Two Slaughterhouses in Turkey. **Poultry Science**, v.83, n.8, p.1427–1432, 2004.

HUE O.; LE BOUQUIN, S.; LALANDE, F.; ALLAIN, V.; ROUXEL, S.; PETETIN, I.; QUESNE, S.; LAISNEY, M.; GLOAGUEN, P.; PICHEROT, M.; SALVAT, G.; BOUGEARD, S.; CHEMALY, M. Prevalence of *Salmonella* spp. on broiler chicken carcasses and risk factors at the slaughterhouse in France in 2008. **Food Control**. v. 22, n. 8, ago., p. 1158–1164, 2011.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

JIMÉNEZ, S.M.; SALSI, M.S.; TIBURZI, M.C.; PIROVANI, M.E. A comparison between broiler chicken carcasses without visible faecal contamination during the slaughtering processo on hazard identification of *Salmonella* spp. **Jornal Applied Microbiology**, v. 93, n.4, p.593-598, 2002.

MALDONADO, A. **Ocorrência de *Salmonella* spp. em carcaças e miúdos de frangos abatidos em feiras livres na zona oeste da cidade de São Paulo**. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia experimental aplicada às zoonoses) - Universidade de São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária, São Paulo, Brasil, 2008.

MENDES, A. A. Jejum pré-abate em frangos de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.3, n.3, set.-dez., 2001.

MOURA FILHO, L.G.M.; BEZERRA, S.S.; BARROS, G.C.; MELO, H.M.G.; MENDES, E.S. Perfil microbiológico da carne de frangos abatidos artesanalmente e na indústria, comercializados na grande Recife-PE. **Medicina Veterinária**, v.4, n.1, p.12-17, jan.-mar., 2010.

MINHARRO, S.; NASCIMENTO, C. A.; GALLETI, J. P.; MERISSE, T. J.; FEITOSA, A. C. F.; SANTOS, H. D.; DIAS, F. E. F.; SANTANA, E. S.; BALDANI, C. D.; ANDRADE, M. A. Antimicrobial susceptibility of *Salmonella* serovars isolated from edible offal and carcasses of slaughtered poultry in the state of Tocantins, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.36, n.4, p.2661-2670, jul./ago., 2015.

NDE, C. W., J. M. MCEVOY, J. S. SHERWOOD, AND C. M. LOGUE. Cross contamination of turkey carcasses by *Salmonella* species during defeathering. **Poultry Science**, v. 86, p.162-7, 2007.

NORTHCUTT, J. K., J. A. CASON, D. P. SMITH, R. L. BUHR, AND D. L. FLETCHER. Broiler carcass bacterial counts after immersion chilling using either a low or high volume of water. **Poultry Science**, v.85, p.1802–1806, 2006.

OLIVEIRA, A.V.B.; SILVA, R.A.; ARAÚJO, A.S.; BRANDÃO, P.A. Padrões microbiológicos da carne de frango de corte – referencial teórico. **Revista Verde**, n.6, n.3, p.01, 2011.

OLSEN, J.E.; BROWN, D.J.; MADSEN, M.; BISGAARD, M. Cross-contamination with *Salmonella* on a broiler slaughterhouse line demonstrated by use of epidemiological markers. **Journal of Applied Microbiology**, n. 94, p. 826–835, 2003.

PANZENHAGEN, P.H.N.; AGUIAR, W.S.; FRASÃO, B. DA S.; PEREIRA, V.L.A.; ABREU, D.L.C.; RODRIGUES, D.P.; NASCIMENTO, E. Prevalence and fluoroquinolones resistance of *Campylobacter* and *Salmonella* isolates from poultry carcasses in Rio de Janeiro Brazil. **Food Control**, v.61, p.243-247, 2016.

PASSOS, A. C. S.; BOGEA, J. S.; TAVARES, G. S.; SILVA, R. M. L.; BRITO, D.A.P. Perfil de consumidores de frangos abatidos em Mercados Públicos do Maranhão. **Revista Higiene Alimentar**, v. 2, p. 242-243, 2015.

PENTEADO, F.R.; ESMERINO, L.A. Avaliação da qualidade microbiológica da carne de frango comercializada em Ponta Grossa-PR. **Biolology Health Science**, v.17, n.1, p. 37-45, 2011.

RASSCHAERT, G.; HOUF, K.; DE ZUTTER, L. Impact of the slaughter line contamination on the presence of *Salmonella* on broiler carcasses. **Journal of Applied Microbiology**, v.103, n.2, p. 333-41, 2007

RIVIERA-PEREZ, W.; BÁRQUIO-CALVO, E.; ZAMORA-SANABRIA, R. *Salmonella* contamination risk points in broiler carcasses during slaughter line processing. **Jornal of Food Protection**, n.77, v.12, p.2031-2034, 2014.

ROCHA, H.C.; COSTA, C.; CASTOLDI, F.L.; CECCHETTI, D.; CALVETE, E.O.; LODI, B.S. Perfil socioeconômico dos feirantes e consumidores da Feira do Produtor de Passo Fundo, RS. **Ciência Rural**, v.40, n.10, p.2593-2597, dez., 2010.

RUSSEL, S. M. **Controlling Salmonella in Poultry Production and Processing**. United States of American: CRC Press, 2012. 310p.

SANTOS, L. A.; MION, L.; MAROTZKI, M.; PARIZOTTO, L.; RODRIGUES, L.B.; NASCIMENTO, V.P.; SANTOS, L.R. Número mais provável miniaturizado e microbiologia convencional para isolamento de *Salmonella* spp. em abatedouros de frangos de corte. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.35, n.3, p.223-229, 2015.

SIMAS, V.S.; SANTOS, F.F.; GOUVEA, R.; AQUINO, M.H.C.; ABREU, D.L.C. NASCIMENTO, E.R.; PEREIRA, V.L.A. Pré-resfriamento na redução de coliformes em carcaças de frango de corte. **Ciência Rural**, v.43, n.9, p.1618-1622, set, 2013.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A; SILVEIRA, N. F. A. TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Varela, 2007.

SILVA, M.V. **Poultry and poultry products - risks for human Health**. Food And Agriculture Organization Of The United Nations – FAO. Poultry Development Review. 2010. Disponível em: www.fao.org/docrep/013/al742e/al742e00. Acesso em 02 de fevereiro de 2016.

SMITH, D.P.; NORTHCUTT, J.K.; CASON, J.A.; HINTON JR., A.; BUHR, R.J.; Ingram, K.D. Effect of External or Internal Fecal Contamination on Numbers of Bacteria on Prechilled Broiler Carcasses. **Poultry Science**, v.86, p.1241–1244, 2007.

STOPPA, G.F.Z. **Pesquisa de Salmonella spp. em abatedouros avícolas**, 2011. 92p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) - Universidade Estadual Paulista: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2011.

SVOBODOVÁ, I. Detection of *Salmonella indica* in broiler production in the Czech Republic. **Acta agriculturae Slovenica**, v. 3, p. 309–311, 2012.

TESSARI, E. N. C.; CARDOSO, A. L. S. P.; KANASHIRO, A. M. I.; STOPPA, G. F. Z.; LUCIANO, R. L.; CASTRO, G. M. DE. Ocorrência de *Salmonella* spp. em carcaças de frangos industrialmente processadas, procedentes de explorações industriais do Estado de São Paulo, Brasil. **Ciência Rural**, v.38, n.9, dez., p.2557-2560, 2008.

TESSARI, E. N. C.; KANASHIRO, A. M. I.; STOPPA, G. F. Z.; LUCIANO, R. L.; CASTRO, A. G. M.; CARDOSO, A. L. S. P. Important Aspects of *Salmonella* in the Poultry Industry and in Public Health. In: MAHMOUD, B. S. M. (Org.). **Salmonella - A Dangerous Foodborne Pathogen**. 1. ed. Croatia: Intech, 2012. cap. 9, p. 181-199.

TIROLI, I.C.C.; COSTA, C.A. de. Ocorrência de *Salmonella* spp. em carcaças de frangos recém-abatidos em feiras e mercados públicos da cidade de Manaus-AM. **Acta Amazônica**, v.36, n.2, p.205-208, 2006.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURA - USDA - NATIONAL INSTITUTE OF FOOD AND AGRICULTURE. 2014 *Annual. Livestock and Poultry: World Markets and Trade*, 2014. Disponível em: <http://www.fas.usda.gov/data/livestock-and-poultry-world-markets-and-trade> Acesso em: 01 mar.2015.

VIANA, F. J. C.; FRANKLIN, F.L.A.A.; PEREIRA, C. F. C.; LIMA, D. B. C.; JUNIOR, A. M. C.; RIZZO, M. S. Abate clandestino de suínos e pequenos ruminantes na cidade de Teresina, Piauí: implicações na saúde ocupacional. **Revista Interdisciplinar Ciência e Saúde**, v. 1, n. 1, p. 38-47, 2014.

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.

7 CONCLUSÃO

A *Salmonella* spp. existe na cadeia de produção de frangos do Estado do Maranhão, com elevada ocorrência, principalmente, em carcaças destinadas a comercialização. *Salmonella* ser. Schwarzengrund apresentou maior prevalência e predomínio ao longo das etapas de produção, enquanto os sorovares *Salmonella* ser. Enteritidis e *Salmonella* ser. Typhimurium tiveram ocorrência no ambiente de criação de frangos, sugerindo a necessidade de implementação de controle sanitário nas granjas avícolas. Os isolados de *Salmonella* das diferentes fontes da cadeia evidenciaram fenótipos com resistência às distintas classes de antimicrobianos de uso convencional na medicina veterinária, com elevada frequência de fenótipos com resistência múltipla a drogas (MDR). Nesses isolados, foram detectados genes que codificam resistência às sulfonamidas (*sul1* e *sul2*), trimetoprim (*dfrA1* e *dfrA12*), tetraciclina (*tetA*, *tetB*, *tetC* e *tetE*) e beta-lactâmicos (*blaCTX-M*, *blaCTX-M2* e *blaSHV*). Os genes determinantes de resistência aos beta-lactâmicos tiveram associação predominante com os genes de resistência às sulfonamidas, tetraciclina e trimetoprim, sugerindo existir mecanismos que levaram a co-seleção de genes de resistência a diferentes classes de antimicrobianos. Nos abatedouros artesanais de frangos, as carcaças comercializadas apresentaram contagens elevadas de coliformes de origem fecal e microorganismos mesófilos. As falhas de higiene e operações do abate nas etapas de recepção das aves, depenagem e evisceração manual tiveram associação com altas taxas de contaminação por *Salmonella* no produto final.

REFERÊNCIAS

- ABATCHA, M. G.; ZAKARIA, Z.; KAUR, D. G.; THONG, K. L. Review Article: A trends of *Salmonella* and antibiotic resistance. **Advances in Life Science and Technology**, v. 17, 2014.
- ADESIJI, Y. O.; DEEKSHIT, V. K.; KARUNASAGAR, I. Antimicrobial-resistant genes associated with *Salmonella spp.* isolated from human, poultry, and seafood sources. **Food Science e Nutrition**, v.2, n.4, p.436–442, 2014.
- AGBAJE, M.; BEGUM, R. H.; OYEKUNLE, M. A.; OJO, O. E.; ADENUBI, O. T. Evolution of *Salmonella* nomenclature: a critical note. **Folia Microbiology**, v.56, n.6, p. 497-503, 2011.
- AGERSO, Y.; PEIRANO, G.; AARESTRUP, F. *dfrA25*, a novel trimethoprim resistance gene from *Salmonella* Agona isolated from a human urine sample in Brazil. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.58, p. 1044–1047, 2006.
- AKBAR, A.; ANAL, A. K. Prevalence and antibiograma study of *Salmonella* and *Staphylococcus aureus* in poultry meat. **Asian Pacific Journal Tropical Biomedicine**, v.3, n.2, p.163-168, 2012.
- AMBLER, R. P., COULSON, A. F., FRERE, J. M., GHUYSEN, J. M., JORIS, B., FORSMAN, M., et al. A standard numbering scheme for the class A β -lactamases. **The Biochemical Journal**, v.276, p.269–270, 1991.
- ANDINO, A.; HANNING, I. *Salmonella enterica*: Survival, Colonization, and Virulence Differences among Serovars. **The Scientific World Journal**, v. 2015, Article ID 520179, 16 p. 2015.
- ANDREATTI FILHO, R. L.; LIMA, E. T.; MENCONI, A.; ROCHA, T. S.; GONÇALVES, G. A. M. Pesquisa de *Salmonella spp.* em suabes de arrasto provenientes de granjas avícolas. **Veterinária e Zootecnia**, v.16, n.1, p.190-194, 2009.
- ANTUNES, P., MACHADO, J.; SOUSA, J. C.; PEIXE, L. Dissemination of sulfonamide resistance genes (*sul1*, *sul2*, and *sul3*) in Portuguese *Salmonella enterica* strains and relation with integrons. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v. 49, p.836-839, 2005.
- ALL-GALLAS, N. A.; ABBASSI, M. S.; GHARBI, B.; MANAI, M.; FAYALA, M. N. B.; BICHIHI, R.; ALL-GALLAS, A.; AISSA, R. B. Occurrence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants and *rmtB* gene in *Salmonella enterica* serovar Enteritidis and Typhimurium isolated from food-animal products in Tunisia. **Foodborne Pathogens And Disease**, v.10, n. 9, 2013.
- ARAÚJO, J. A.; SILVA, J. H. V. DA; AMÂNCIO, A. L. DE; LIMA, M. R. DE; LIMA, C. B. Uso de aditivos na alimentação de aves. **Acta Veterinaria Brasileira**, v.1, n.3, p.69 -77, 2007.
- ARSENAULT, J.; LETELLIER, A.; QUESSY, S.; BOULIANNE, M. Prevalence and risk factors for *Salmonella* and *Campylobacter spp.* carcass contamination in broiler chickens slaughtered in Quebec, Canada. **Journal of Food Protection**, v.70, n.8, p.1820-1828, ago., 2007.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL - ABPA. **Relatório Anual de 2012**. Disponível em: <http://abpa-br.com.br/setores/avicultura/publicacoes/relatorios-anuais>. Acesso em: 16 ago. 2016.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL - ABPA. **Relatório Anual de 2015**. Disponível em: <http://abpa-br.com.br/setores/avicultura/publicacoes/relatorios-anuais>. Acesso em: 02 jan. 2016.

AUERBACH, E. A.; SEYFRIEND, E.E.; McMAHON, K.D. Tetracycline resistance genes in activated sludge wastewater treatment plants. **Water Research**, v.4, n.5, p.1143-51, 2007.

BACK, A. **Manual de doenças de aves**. 2.ed. Cascavel-PR: Editora Integração, 2010. 311p.

BÁNKUTI, F. I.; AZEVEDO; P. F. Abates clandestinos de bovinos: uma análise das características do ambiente institucional. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ECONOMIA E SOCIOLOGIA RURAL, 39, Recife, 2001. **Anais...** Recife: SOBER, 2001.

BAPTISTA, M.G.F.M. Mecanismos de resistência aos antibióticos. 2013. 51p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologia: Faculdade de Ciências e Tecnologias da Saúde, Lisboa, 2013.

BÄUMLER AJ, TSOLIS RM, FICHT TA, ADAMS LG. Evolution of host adaptation in *Salmonella enterica*. **Infection and Immunity**, v. 66, p.4579–4587, 1998.

BARROS, L.S.S.; RIBEIRO, J.G.N.; CASELLI, J.B. *Salmonella* spp. Lignieres 1900 (Enterobacteriales: Enterobacteriaceae) in informally sold broilers. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v.08, n.4, p.1-21, 2014.

BARROW, P.A.; METHNER, U. **Salmonella in domestic animals**. 2 ed., Boston: Cabi Head Office, 2013. 520p.

BERCHIERI JÚNIOR, A.; FREITAS NETO, O. C. Salmoneloses. In:_____. BERCHIERI JÚNIOR, A.; SILVA, E. N.; DI FÁBIO, J.; SESTI, L.; ZUANAZE, M. A. F. **Doença das Aves**. Campinas: FACTA, 2009, p.435-454.

BEUTLICH, J., JAHN, S.; MALORNY, B.; HAUSER, E.; HUHN,S.; SCHROETER, A.; RODICIO,M.R.; APPEL, B.; THRELFALL, J.; MEVIUS, D.; HELMUTH, R.; GUERRA, B. Antimicrobial Resistance and Virulence Determinants in European *Salmonella* Genomic Island 1-Positive *Salmonella enterica* Isolates from Different Origins. **Applied and Environmental Microbiology**, v.77, n.16, p. 5655–5664, 2011.

BIFFI CPI; STEFANI L.; MILETTI, L.C.; MATIELLO, C.A.; BACKES, R.G.I.; ALMEIDA, J.M.I.; NEVES, G.B.I. Phenotypic and Genotypic Resistance Profile of *Salmonella* Typhimurium to Antimicrobials Commonly Used in Poultry. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.16, n.2, p.93-96, 2014.

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

BONI, H. F. K.; CARRIJO, A. S.; FASCINA, V. B. Ocorrência de *Salmonella* spp. em aviários e abatedouro de frangos de corte na região central de Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.12, n.1, p.84-95, 2011.

BORSOI, A. **Ocorrência, contagem e resistência antimicrobiana de *Salmonella* isoladas de carcaças de frangos resfriadas e pesquisa de *Salmonella* em galpões de frangos de corte**. 2005. 78p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

BOUQUIM, S. L.; ALLAIN, V.; ROUXEL, S.; PETETIN, I.; PICHEROT, M.; MICHEL, V.; CHEMAL, M. Prevalence and risk factors for *Salmonella* spp. contamination in French broiler-chicken flocks at the end of the rearing period. **Preventive Veterinary Medicine**, v.97, p. 245–251, 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Portaria DSA nº. 8, de 23 de janeiro de 1995. Método Analítico de Carcaças de Aves e Pesquisa de *Salmonella*. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 10 out. 1995. Seção 1, p. 10.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 78, de 3 de novembro de 2003. Normas Técnicas para Controle e Certificação de Núcleos e Estabelecimentos Avícolas como Livres de *Salmonella* Gallinarum e de *Salmonella* Pullorum e Livres ou Controlados para *Salmonella* Enteritidis e para *Salmonella* Typhimurium. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 05. nov. 2003a. Seção 1, p. 3.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Instrução Normativa nº70, de 6 de outubro de 2003. Institui o Programa de Redução de Patógenos – Monitoramento Microbiológico e Controle de *Salmonella* sp. em carcaças de frangos e perus. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 10 out. 2003b. Seção 1, p. 9.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 10, de 11 de abril de 2013. Programa de gestão de risco diferenciado, baseado em vigilância epidemiológica e adoção de vacinas, para os estabelecimentos avícolas considerados de maior susceptibilidade à introdução e disseminação de agentes patogênicos no plantel avícola nacional e para estabelecimentos avícolas que exerçam atividades que necessitam de maior rigor sanitário. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 12 abr. 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Consulta Pública - CP, nº 49, de 13 de julho de 2000. Regulamento técnico para instruções de uso, preparo e conservação na rotulagem de carnes e miúdos de aves crus, resfriados ou congelados. **Diário Oficial. Brasília**. 17 jul. 2000, nº 136-E, Seção 1.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Programa Nacional De Monitoramento Da Prevalência e da Resistência Bacteriana Em Frango - PREBAF. **Relatório de Pesquisa em Vigilância Sanitária de Alimentos. Monitoramento da prevalência e do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos em enterococos e salmonelas isolados de carcaças de frango congeladas comercializadas no Brasil**. Brasília, 2012. 171p. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Alimentos/Assuntos+de+Interesse/Monitoramento+e+Pesquisa/PREBAF> Acesso em: 10 abr. 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Doenças transmitidas por alimentos**. 2015. Disponível em: <http://u.saude.gov.br/images/pdf/2015/novembro/09/Apresenta---o-dados-gerais-DTA>. Acesso em: 30 jan. 2016

BUSH, K. Bench-to-bedside review: The role of β -lactamases in antibiotic-resistant Gram-negative infections. **Critical Care**, v.14, p. 224, 2010.

BUSH, K., JACOBY, G. A.; MEDEIROS, A. A. A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.39, p.1211–1233, 1995.

CARDINALE, E., TALL, F., GUÈYE, E. F., CISSE, M., SALVAT, G. Risk fator for *Salmonella enterica* subsp. *enterica* infection in senegalese broilerchicken flocks. **Preventive Veterinay Medicine**, v. 63, p.151-161, 2004.

CARDOSO, A. L. S. P.; TESSARI, E. N. C. Salmonela na segurança dos alimentos. **Biológico**, São Paulo, v.70, n.1, p.11-13, 2008.

CARDOSO, A. L. S. P.; KANASHIRO, A. M. I.; STOPPA, G. F. Z.; CASTRO, A. G. M.; LUCIANO, R. L.; TESSARI, E. N. C. Prevalência de *Salmonella* Enteritidis isoladas de suabes de arrasto em granjas de frangos de corte. **Revista Ciêntica Eletrônica de Medicina Veterinária**. Ano XI, n.20, janeiro, 2013.

CARDOSO, A. L. S. P.; KANASHIRO, A. M. I.; STOPPA, G. F. Z.; CASTRO, A. G. M. DE; LUCIANO, R. L. Ocorrência de *Salmonella* spp. em carcaças de frango provenientes de abatedouros do estado de São Paulo, Brasil, no período de 2000 a 2010. **Revista científica de Medicina Veterinária**, Ano XIII, n. 24, jan., 2015.

CASTANHEIRA, B. A. M. G. **Mecanismos de resistência aos antibióticos**. 2013. 57p. Dissertação (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias: Faculdade Ciências e Tecnologia da Saúde, 2013.

CATTOIR, V.; WEILL, F. X.; POIREL, L.; FABRE, L.; SOUSSY, J.; NORDMANN, P. Prevalence of qnr genes in *Salmonella* in France. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 59, 751–754, 2007.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION - CDC. **Surveillance for foodborne disease outbreak United States, 2013**. Atlanta: CDC, 15p. Disponível em: <http://www.cdc.gov/foodsafety/fdoss/> Acesso em: 20 out. 2015.

CDC – CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Emerging Infectious Diseases Journal – Scientific Nomenclature**, 2013, Atlanta, EUA: CDC. Disponível em: <http://wwwnc.cdc.gov/eid/pages/scientific-nomenclature.htm>. Acesso em 20 out. 2015.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION – CDC. Morbidity and Mortality Weekly Report. **Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks United States, 2007**. Atlanta: CDC, v. 59, n. 31, ago., 2010. Disponível em: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5931a1.htm>. Acesso em: 30 set. 2015.

COAN, M.C. **Detecção de genes de resistência a antimicrobianos de importância clínica em amostras de carne de frango**. 2014. 108p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade de São Paulo: Faculdade de Saúde Pública, São Paulo, 2014.

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

COSTA, M.J.M. **Caracterização dos elos da cadeia de produção de frangos de corte na Ilha do Maranhão**. 2014. 45p. Monografia (Curso em Licenciatura em Ciências Agrárias) - Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Maranhão, São Luís, 2014.

DAHSHAN, H.; SHAHADA, F.; CHUMA, T.; MORIKI, H.; OKAMOTO, K. Genetic analysis of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovars Stanley and Typhimurium from cattle. **Veterinary Microbiology**, v. 145, n.1-2, p. 76–83, 2010.

DUARTE, D. A. M.; RIBEIRO, A. R. R.; VASCONCELOS, A. M. M.; SANTOS, S. B.; SILVA, J. V. D.; ANDRADE, P. L. A.; FALCÃO, L. S. P. DA C. DE A. Occurrence of *Salmonella* spp. in broiler chicken carcasses and their susceptibility to antimicrobial agents. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.40, p.569-573, 2009.

DRESCHER, G. **Caracterização de resistência a quinolonas em *Salmonella enterica* isoladas de materiais de origem avícola do Sul do Brasil**. 2013. 56p. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) - Universidade Católica do Rio Grande do Sul: Faculdade de Biociências, Porto Alegre, 2013.

FRANCISCO, D. C.; NASCIMENTO, V.P.; LOGUERCIO, A. P.; CAMARGO, L. Caracterização do consumidor de carne de frango da cidade de Porto Alegre. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.1, p.253-258, 2007.

FERNANDES, S.; PATERSON, D.L.; GHILARDI-RODRIGUES, A.C.; ADAMS-HADUCH, J.M.; TAVECHIO, A.T.; DOI, Y. CTX-M-2–Producing *Salmonella* Typhimurium isolated from Pediatric Patients and Poultry in Brazil. **Microbial Drug Resistance**, v. 15, n.4, 2009.

FERRARI, R.; GALIANA, A.; CREMADES, R.; RODRIGUEZ, J.C.; MAGNANI, M.; TOGNIM, M.C.B.; OLIVEIRA, T.C.R.M.; ROYO, G. Plasmid-mediated quinolone resistance by genes *qnrA1* and *qnrB19* in *Salmonella* strains isolated in Brazil. **The Journal Infection Developing Countries**, v.5, n.6, p. 496-498, 2011.

FOLEY, S.L, NAYAK, R.; HANNING, I.B.; RICKE, S.C. Population dynamics of *Salmonella enterica* serotypes in commercial egg and poultry production. **Applied and Environmental Microbiology**, v.77, n.13, p. 4273-4279, 2011.

FOLEY, S.L.; JOHNSON, T.J.; RICKE, S.C.; NAYAK, R.; DANZEISEN, J. *Salmonella* Pathogenicity and host adaptation in chicken-associated serovars. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v.77, n.4, p.582-607, 2013.

FORSBERG, K.J.; PATEL, S.; WENCEWICZ, T.A.; DANTAS, G. The Tetracycline Destructases: A Novel Family of Tetracycline-Inactivating Enzymes. **Chemistry e Biology**, v.22, p.888–897, jul., 2015.

FRANCO, B.D.G.de M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Editora Atheneu, 2008, 183p.

FREITAS NETO, O.C. DE; PENHA FILHO, R. A. C.; BARROW, P.; BERCHIERI JUNIOR, A. Sources of Human Non-Typhoid Salmonellosis: A Review. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.12, Jan – Mar, n.1, p.01 – 11, 2010.

GAST, R. K.; GUARD-BOULDIN, J.; HOLT, P. S. Colonization of reproductive organs and internal contamination eggs after experimental infection of laying hens with *Salmonella* Heidelberg and *Salmonella* Enteritidis. **Avian Disease**, v. 48, n. 1, p. 863-869, 2004.

GLENN, L. M.; LINDSEY, R. L.; FOLSTER, J. P.; PECIC, G.; BOERLIN, P.; GILMOUR, M. W.; HARBOTTLE, H.; ZHAO, S.; MCDERMOTT, P. F.; FEDORKA-CRAY, P. J.; FRYE, J. G. Antimicrobial resistance genes in multidrug-resistant *Salmonella enterica* isolated from animals, retail meats, and humans in the United States and Canada. **Microbiology Drug Resistance**, v.19, p.175–184, 2013.

GONZALES, E.; MELO, H. H. C.; CAFÉ, M. B. Uso de antibióticos promotores de crescimento na alimentação e produção animal. **Revista UFG**, Ano XIII, n. 13, dez., 2012.

GRIMONT, P. A.; WEILL, F. X. **Antigenic Formulae of the Salmonella Serovars**, WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*, Institut Pasteur, Paris, France, 2007. 166p.

GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. S.; PUPO, M. T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova**, v. 33, n. 3, p.667-679, 2010.

HERMANN, S. Principais pontos críticos de controle da *Salmonella* na cadeia de produção avícola. In: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA, 8, 2012, Chapecó. **Anais...** Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2012. p. 39-51.

HOFER, E.; SILVA FILHO, S.J.; REIS, E.M.F. DOS. Sorovares de Salmonella isolados de matérias-primas e de ração para aves no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, V.18, n.1, p.21-27, jan./mar, 1998.

HUE, O.; LE BOUQUIN, S.; LALANDE, F.; ALLAIN, V.; ROUXEL, S.; PETETIN, I.; QUESNE, S.; LAISNEY, M.; GLOAGUEN, P.; PICHEROT, M.; SALVAT, G.; BOUGEARD, S.; CHEMALY, M. Prevalence of *Salmonella* spp. on broiler chicken carcasses and risk factors at the slaughterhouse in France in 2008. **Food Control**. v. 22, n. 8, ago., p. 1158–1164, 2011.

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

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

KELLY, B. G.; VESPERMANN, A.; BOLTON, D. J. The role of horizontal gene transfer in the evolution of selected foodborne bacterial pathogens. **Food and Chemical Toxicology**, v. 47, p. 951-968, 2009.

KOTTWITZ, L. B. M.; SCHEFFER, M. C.; COSTA, L. M. D.; LEÃO, J. A.; BACK, A.; RODRIGUES, D. P.; MAGNANI, M.; OLIVEIRA, T. C. R. M. Perfil de resistência a antimicrobianos de cepas de *Salmonella Enteritidis* de origem avícola. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.33, n.2, p.705-712, abr., 2012.

LIN, J.; NISHINO, K.; ROBERTS, M. C.; TOLMASKY, M.; AMINOV, R. I.; ZHANG, L. Mechanisms of antibiotic resistance. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, n. 34, feb., 2015.

LOUDEN, B. C.; HAARMANN, D.; HAN, J.; FOLEY, S. L.; LYNNE, A. M. Characterization of antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium isolates from food animals in the U.S. **Food Research International**, v.45, n. 2, p.968-972, 2012.

LU, Y.; ZHAO, H.; SUN, J.; LIU, Y.; ZHOU, X.; BEIER, R.C.; WU, G.; HOU, X. Characterization of Multidrug-Resistant *Salmonella enterica* Serovars Indiana and Enteritidis from Chickens in Eastern China. **Plosone**, v. 9, n.5, mai., 2014.

LUNDGREN, P. U.; SILVA, J. A.; MACIEL, J. F.; FERNANDES, T. M. Perfil da qualidade higiênico-sanitária da carne bovina comercializada em feiras livres e mercados públicos de João Pessoa – PB, BRASIL. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v.20, n.1, p. 113-119, 2009.

MALDONADO, A. **Ocorrência de *Salmonella* spp. em carcaças e miúdos de frangos abatidos em feiras livres na zona oeste da cidade de São Paulo**. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia experimental aplicada às zoonoses) - Universidade de São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária, São Paulo, Brasil, 2008.

MATIELLO, S. P.; DRESCHER, G.; BARTH JR, V. C.; FERREIRA, C. A. S.; OLIVEIRA, S. D. Characterization of antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* strains isolated from Brazilian poultry production. **Antonie van Leeuwenhoek**, v.108, p.1227-1238, 2015.

MARSHALL, B. M; LEVY, S.B. Food Animals and Antimicrobials: Impacts on Human Health. **Clinical microbiology reviews**, v. 24, n. 4, p. 718-733, 2011.

McCARTNEY, E. O banimento dos antibióticos, promotores de crescimento na UE – implicações globais para nutrição animal. In: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA, 11., 2008, Chapecó. **Anais...** Chapecó: Embrapa suínos e aves, 2008, p.95-109.

MENDONÇA, E.P. **Disseminação de *Salmonella* sp na cadeia produtiva de frango de corte**. 2011. 70p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinária) – Universidade Federal de Uberlândia: Faculdade de Medicina Veterinária, Uberlândia, 2011.

MEDEIROS MAN, OLIVEIRA DCN, RODRIGUES DP, FREITAS DRC. 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.555-60, 2011.

MENNUCCI, T.A. **Avaliação dos riscos à saúde pública proporcionados pelo abate clandestino de aves em avícolas**. 2016. 129p. Monografia (Pós-graduação “Latu Sensu” em Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal e Vigilância Sanitária de Alimentos) - Universidade Castelo Branco, São Paulo, 2006.

MINHARRO, S.; NASCIMENTO, C. A.; GALLETI, J. P.; MERISSE, T. J.; FEITOSA, A. C. F.; SANTOS, H. D.; DIAS, F. E. F.; SANTANA, E. S.; BALDANI, C. D.; ANDRADE, M.

A. Antimicrobial susceptibility of *Salmonella* serovars isolated from edible offal and carcasses of slaughtered poultry in the state of Tocantins, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.36, n.4, p.2661-2670, jul./ago., 2015.

MIRANDA, Z.B. Inspeção de produtos de origem animal. **Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária**, v.26, p.21-26. 2002.

MOHAMED, T.; ZHAO, S.; WHITE, D.G.; PARVEEN, S. Molecular characterization of antibiotic resistant *Salmonella Typhimurium* and *Salmonella Kentucky* isolated from pre- and post-chill whole broilers carcasses. **Food Microbiology**, v.38, p. 6-15, 2014.

MORAES, D.M.C.; ANDRADE, M.A.; REZENDE, C.S.M.; BARNABÉ, A.C.DE S.; JAYME, V. DE S.; NUNES, I.A. BAPTISTA, D. DE A. Fontes de infecção e perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos de *Salmonella* sp. isoladas no fluxo de produção de frangos de corte. **Arquivos Instituto Biológico**, v.81, n.3, p. 195-201, 2014.

MOREIRA, G.N.; REZENDE, C.S.M.; CARVALHO, R.N.; MESQUITA, S.Q.P.; OLIVEIRA, A.N.; ARRUDA, M.L.T. Ocorrência de *Salmonella* sp. em carcaças de frangos abatidos e comercializados em municípios do estado de Goiás. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.67, n.2, p.126-130, 2008.

MOTA, R.A.; SILVA, K.P.C.; FREITAS, M.F.L.; PORTO, W.J.N.; SILVA, L.B.G. Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição a multirresistência bacteriana. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, v. 42, n. 6, p. 465-470, 2005.

MOURA FILHO, L.G.M.; BEZERRA, S.S.; BARROS, G.C.; MELO, H.M.G.; MENDES, E.S. Perfil microbiológico da carne de frangos abatidos artesanalmente e na indústria, comercializados na grande Recife-PE. **Medicina Veterinária**, Recife, v.4, n.1, p.12-17, jan/mar, 2010.

MURRAY, P.R.; ROSENTHAL, K.S.; PFALLER, M.A. **Microbiologia Médica**. 5.ed., Rio de Janeiro: Elsevier Editora, 2010.

NAMATA, H.; WELBY, S.; AERTS, M.; FAES, C.; ABRAHANTES, J.C.; IMBERECHTS, H.; VERMEERSCH, K., HOOYBERGHS, J.; MEROC, E.; MINTIENS, K. Identification of risk factors for the prevalence and persistence of *Salmonella* in Belgian broilers chicken flock. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 90, n.3-4, ago., p.211-222, 2009.

NAVIA, M.M.; RUIZ, J.; SANCHEZ-CESPEDES, J.; VILA, J. Detection of dihydrofolate reductase genes by PCR and RFLP. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v.46, p. 295-298, 2003.

NUNES, L.A.; SANTOS, H.D.; MINHARRO, S. Avicultura no Tocantins: situação, ações em sanidade e projeção de crescimento. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v.7, n.13, p. 158-167, 2011.

OLIVEIRA, A.C.O. A dinâmica da estrutura da indústria de carne de frango no Brasil. 2011. 101p. Dissertação (Mestrado em Agronegócios) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

OLIVEIRA, W.F.; CARDOSO, W.M.; ROMÃO, J.M.; TEIXEIRA, R.S.C.; CÂMARA, S.R.; SIQUEIRA, A.A.; MARQUES, L.C.L. Initial identification and sensibility to antimicrobial

agentes of *Salmonella* sp. isolated from poultry products in the State of Ceara, Brazil. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.8, n.3, jul.-set., p.193-199, 2006.

PANDINI, J.A.; PINTO, F.G.S.; MULLER, J.M.; WEBER, L.D.; MOURA, A C.de. Ocorrência e perfil de resistência antimicrobiana de sorotipos de *Salmonella* spp. isolados de aviários do Paraná, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.82, p.1-6, 2015.

PANZENHAGEN, P.H.N.; AGUIAR, W.S.; FRASÃO, B. DA S.; PEREIRA, V.L.A.; ABREU, D.L.C.; RODRIGUES, D.P.; NASCIMENTO, E. Prevalence and fluoroquinolones resistance of *Campylobacter* and *Salmonella* isolates from poultry carcasses in Rio de Janeiro Brazil. **Food Control**, v.61, p.243-247, 2016.

PALERMO-NETO, J.; SPINOSA, H.S.; GÓRNIAC, S.L. **Farmacologia aplicada à Avicultura**. São Paulo: Editora Roca, 2005. 366p.

PASSOS, A. C. S.; BOGEA, J. S.; TAVARES, G. S.; SILVA, R. M. L.; BRITO, D. A. P. Perfil de consumidores de frangos abatidos em Mercados Públicos do Maranhão. **Revista Higiene Alimentar**, v. 29, mar/abr, p. 242-243, 2015.

PIDDOCK LJV. Multidrug-resistance efflux pumps – not just for resistance. **Nature Review Microbiology**, v.4, n.8, p.629-636, 2006.

PHILLIPS, I.; CASEWEL, M.; COX, T.; DE GROOT, B.; FRIIS, C.; JONES, R.; NIGHTINGALE, C.; PRESTON, R.; WADDELL, J. Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. **Journal Antimicrobial Chemotherapy**, v.53, n.1, p.28-52, 2004.

PUBLIC HEALTH ENGLAND - PHE. **Gastrointestinal Infections Data Salmonelosis, 2014**. Disponível em: https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/337647/Salmonella_surveillance_tables.pdf. Data de acesso: 03/11/2015.

RAVAGNANI, L. K.; AGOSTINIS, R. O.; OTUTUMI, L. K.; LIMA, E. T.; FERNANDES, J. I. M.; MARTINS, L. A. Pesquisa de *Salmonella* spp. em frangos de corte criados em galpões climatizados de uma integração na região Oeste do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 6, p. 2327-2336, nov./dez. 2012.

REVOLLEDO, L. Alternativas para o controle de *Salmonella*. In: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA, 11, 2008, Chapecó. **Anais...** Chapecó: Embrapa suínos e aves, 2008, p.95-109.

REVOLLEDO, L.; FERREIRA, A.I.P.; MEAD, G.C. Prospects in *Salmonella* control: competitive exclusion, probiotics, enhancement of avian intestinal immunity. **Journal Applied Poultry Research**. V.15, p.341-351, 2006.

RODRÍGUEZ, I., BAROWNICK, W., HELMUTH, R., MENDOZA, M. C., RODICIO, M. R., SCHROETER, A., GUERRA, B. Extended-spectrum β -lactamases and AmpC β -lactamases in ceftiofur-resistant *Salmonella enterica* isolates from food and livestock obtained in Germany during 2003–07. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.64, n.2, p.301–309, 2009.

ROSE, N., BEAUDEAU, F., DROUIN, P., TOUX, J.-Y., ROSE, V., COLIN, P. Risk factors for *Salmonella* persistence after cleansing and disinfection in French broiler-chicken houses. **Preventive Veterinary Medicine**, v.44, n.1-2, p.9–20, 2000.

SANTANA, E. S.; OLIVEIRA, F. H. DE; BARNABÉ, A. C. S.; MENDES, F. R.; ANDRADE, M. A. Uso de antibióticos e quimioterápicos na avicultura. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v.7, n.13, p. 985-1009, 2011.

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

SILVA, E.N., DUARTE, A. *Salmonella* Enteritidis em Aves: Retrospectiva no Brasil. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.4, n.2, mai.-ago., p.085 – 100, 2002.

SILVA, K.C. DA; LINCOPAN, N. Epidemiologia das betalactamases de espectro estendido no Brasil: impacto clínico e implicações para o agronegócio. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboral**, v. 48, n. 2, p. 91-99, abr., 2012.

SILVA, J.M.B.; HOLLENBACH, C.B. Fluoroquinolonas x resistência bacteriana na medicina veterinária. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.77, n.2, p.363-369, 2010.

SILVA, N. DA; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; SANTOS, R.F.S dos; GOMES, R.A.R. **Manual de Métodos e Análises Microbiológicas de Alimentos e Água**. Editora Varela. 4ª ed., 2010.

SILVEIRA, C.O.; SILVEIRA, R.O.; ABREU, C.C.; RITTER, M.A. Abate clandestino: um risco para Saúde Pública. In: SIMPÓSIO DE PÓS GRADUAÇÃO EM ANÁLISES CLÍNICAS, 5, 2013, Viçosa. **Anais...**, Viçosa: Univiçosa, v. 5, n. 1, p. 133-138, 2013.

SINGH, V. *Salmonella* Serovars and Their Host Specificity. **Journal of Veterinary Science e Animal Husbandry**, v.1, n.3, 2013.

SNOEYENBOS G.H.; WILLIAMS J.E. Salmonellosis. In: CALNEK, B.W.; BARNES, H.J.; BEARD, C.W.; REID, W.M.; YODER, H.W. **Diseases of Poultry**. 9 ed. Ames, Iowa State University Press, 1991. p. 73-86.

SOUZA JUNIOR, M. A.; FERREIRA, E. S.; DA CONCEIÇÃO, G. C. Beta-lactamases de Espectro Ampliado (ESBL): um Importante Mecanismo de Resistência Bacteriana e sua Detecção no Laboratório Clínico. **NewsLab**, v. 63, p. 152-174, 2004.

SOUZA, R.B. DE; MAGNAN, M.; OLIVEIRA, T.C.R.M. Mecanismos de resistência às quinolonas em *Salmonella* spp. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 2, p. 413-428, abr./jun. 2010.

THAKER, M.; SPANOGIANNOPOULOS, P.; WRIGHT, G.D. The tetracycline resisto-me. **Cellular and Molecular Life Science**, n.67, n.3, p.419–431, 2010.

TENOVER, F.C. Mechanisms of Antimicrobial Resistance in Bacteria. **The American Journal of Medicine**, v. 119, n.6A, S3–S10, 2006.

TESSARI, E. N. C.; CARDOSO, A. L. S. P.; KANASHIRO, A. M. I.; STOPPA, G. F. Z.; LUCIANO, R. L.; CASTRO, G. M. DE. Ocorrência de *Salmonella* spp. em carcaças de frangos industrialmente processadas, procedentes de explorações industriais do Estado de São Paulo, Brasil. **Ciência Rural**, v.38, n.9, p.2557-2560, 2008.

TESSARI, E. N. C.; KANASHIRO, A. M. I.; STOPPA, G. F. Z.; LUCIANO, R. L.; CASTRO, A. G. M.; CARDOSO, A. L. S. P. Important Aspects of *Salmonella* in the Poultry Industry and in Public Health. In: MAHMOUD, B. S. M. (Org.). **Salmonella - A Dangerous Foodborne Pathogen**. 1. ed. Croatia: Intech, 2012. cap. 9, p. 181-199.

TIROLI, I. C. C.; COSTA, C. A. DE. Ocorrência de *Salmonella* spp. em carcaças de frangos recém-abatidos em feiras e mercados públicos da cidade de Manaus-AM. **Acta Amazônica**, v.36, n.2, p.205-208, 2006.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 10 ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2012. 967p.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA. “**Foodborne illness cost calculator: Salmonella**,” 2013. Disponível em: http://www.ers.usda.gov/topics/food-safety/foodborne-illness/salm_intro.asp. Acesso: 30/09/2015.

VALENTE, J.V.; CARVALHAL, M.V.L.; JUNIOR, J.P.; LIMA, K.R.S.; MANNO, M.C. Comercialização de frangos vivos em feiras de Belém do Pará Pós – proibição. In: Seminário de Pesquisa da UFPA, 2, 2010, Belém. **Anais...** Belém: UFPA, 2010.

VELDMAN K.; CAVACO L. M.; MEVIUS, D.; BATTIST A.; FRANCO, A.; BOTTELDOORN, N.; BRUNEAU, M.; PERRIN-GUYOMARD, A.; CERNY, T.; ESCOBAR, C. F.; GUERRA, B.; SCHROETER, A.; GUTIERREZ, M.; HOPKINS, K.; MYLLYNIEMI A-L, SUNDE, M.; WASYL, D.; AARESTRUP, F. M. International collaborative study on the occurrence of plasmid-mediated quinolone resistance in *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* isolated from animals, humans, food and the environment in 13 European countries. **Jornal Antimicrobial Chemotherapy**, v.66, n.6, p.1278-1286, 2011.

VIANA, F.J.C.; FRANKLIN, F.L.A.A.; PEREIRA, C.F.C.; LIMA, D.B.C.; JUNIOR, A.M.C.; RIZZO, M.S. Abate clandestino de suínos e pequenos ruminantes na cidade de Teresina, Piauí: implicações na saúde ocupacional. **Revista Interdisciplinar de Ciência da Saúde**, v. 1, n. 1, p. 38-47, 2014.

VIEIRA, M.F.A. **Caracterização e análise da qualidade sanitária de camas de frango de diferentes materiais reutilizados sequencialmente**. 2011. 93p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Viçosa, 2011.

VOLKOVA, V. V.; BAILEY, R. H.; WILLS, R. W. *Salmonella* in broiler litter and properties of soil at farm location. **Plos One**, v.4, n.7, 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 Medicina Veterinária Zootecnia**, v.61, n.2, p.326-330, 2009.

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

WANG, Y. C.; CHANG, Y. C.; CHUANG, H. L.; CHIU, C. C.; YEH, K. S.; CHANG, C. C.; HSUAN, S. L.; CHEN, T. H. Antibiotic resistance, integrons and *Salmonella* genomic island 1 among *Salmonella* Schwarzengrund in broiler chicken and pig. **African Journal of Microbiology Research**, v.4, n.9, p. 677-681, 2010.

WANG, Y.; YANG, B.; ZHANG, Z.; MENG, X.; XI, M.; WANG, X.; XIA, X.; SHI, X.; WANG, D.; MENG, J. Molecular characterization of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis on retail raw poultry in six provinces and two National cities in China. **Food Microbiology**, v.46, p.74-80, 2015.

WELDHAGEN, G.F. Integrons and β -lactamases a novel perspective on resisto-me. **Internacional Journal Antimicrobial Agents**, v.23, p.556-562, 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. **Antimicrobial resistance global report on surveillance**. Switzerland: WHO Press, 2014. 232p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. **The evolving threat of antimicrobial resistance: options for action**. Switzerland: WHO Press, 2012. 119p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. **Use of antimicrobials outside human medicine and resultant antimicrobial resistance in humans**. Switzerland: WHO Press, n.268, jan., 2002.

WORLD ORGANIZATION FOR ANIMAL HEALTH - OIE. **Salmonellosis**. Terrestrial Manual, maio, 2010. Disponível em: www.oie.int/.../2.09.09_SALMONELLOSIS.pdf Acesso em: 30 abr. 2015

WORLD ORGANIZATION FOR ANIMAL HEALTH - OIE. List of antimicrobial agents of veterinary importance, Maio, 2015. Disponível em: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Our_scientific_expertise/docs/pdf/Eng_OIE_List_antimicrobials_May2015.pdf. Acesso em: 30 abr. 2015.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURA - USDA. **Trade of all meats to expand in 2016**. Livestock and Poultry: World Markets and Trade, abril, 2016.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE – USDA. **Foodborne illness cost calculator for *Salmonella* (non-typhoidal) 2014**. Disponível em: <http://www.ers.usda.gov/data-products/cost-estimates-of-foodborne-illnesses.aspx#48446> Acesso: 24 abr. 2016.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Amplificação de PCR do gene *invA* e genes de resistência às sulfonamidas, tetracilinas, trimetoprim e beta-lactâmicos

Figura A.1 Amplificação de PCR do gene *invA*. Linha M: 100 bp DNA, Ladder (Promega), Linha 1: Controle positivo (ATTCC 13076). Linha 2-9: amostras positivas para *Salmonella* spp., Linha 10: Controle negativo.

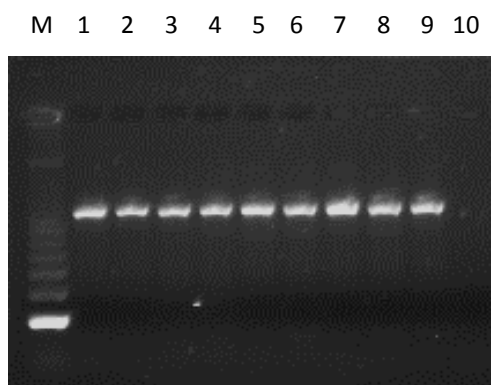


Figura A2 Amplificação de PCR do gene *sul1*. Linha M: 100 bp DNA, Ladder (Promega), Linha 1: Controle positivo, Linha 2-7: amostras positivas, Linha 8: Controle negativo.

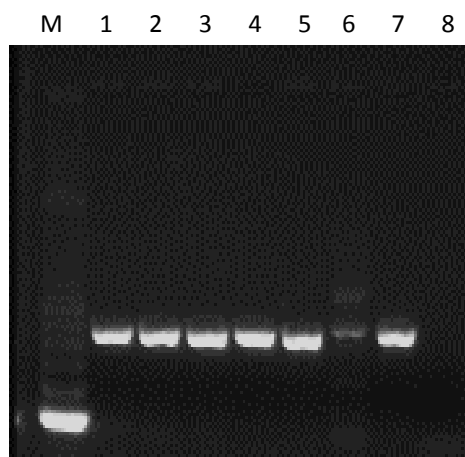


Figura A3 Amplificação de PCR do gene *dfrA12*. Linha M: 100 bp DNA, Ladder (Promega), Linha 1: Controle positivo, Linha 2 e 3: amostras negativas, Linha 4: amostra positiva, Linha 5: Controle negativo.

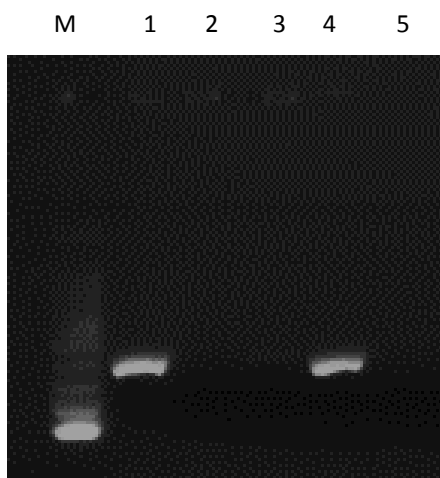


Figura A4 Amplificação de PCR do gene *tetC*. Linha M: 100 bp DNA, Ladder (Promega), Linha 1: Controle positivo, Linha 2 e 6: amostras positivas, Linha 3, 4 e 5: amostras negativas, Linha 7: Controle negativo.

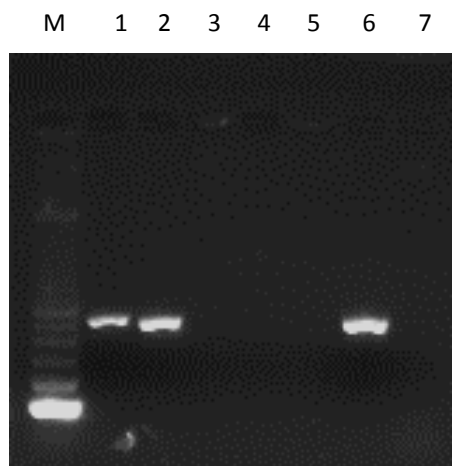
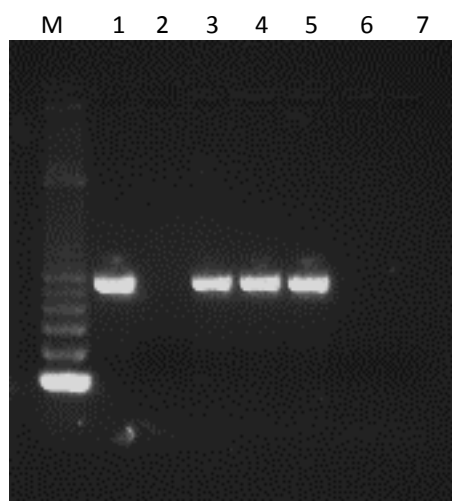
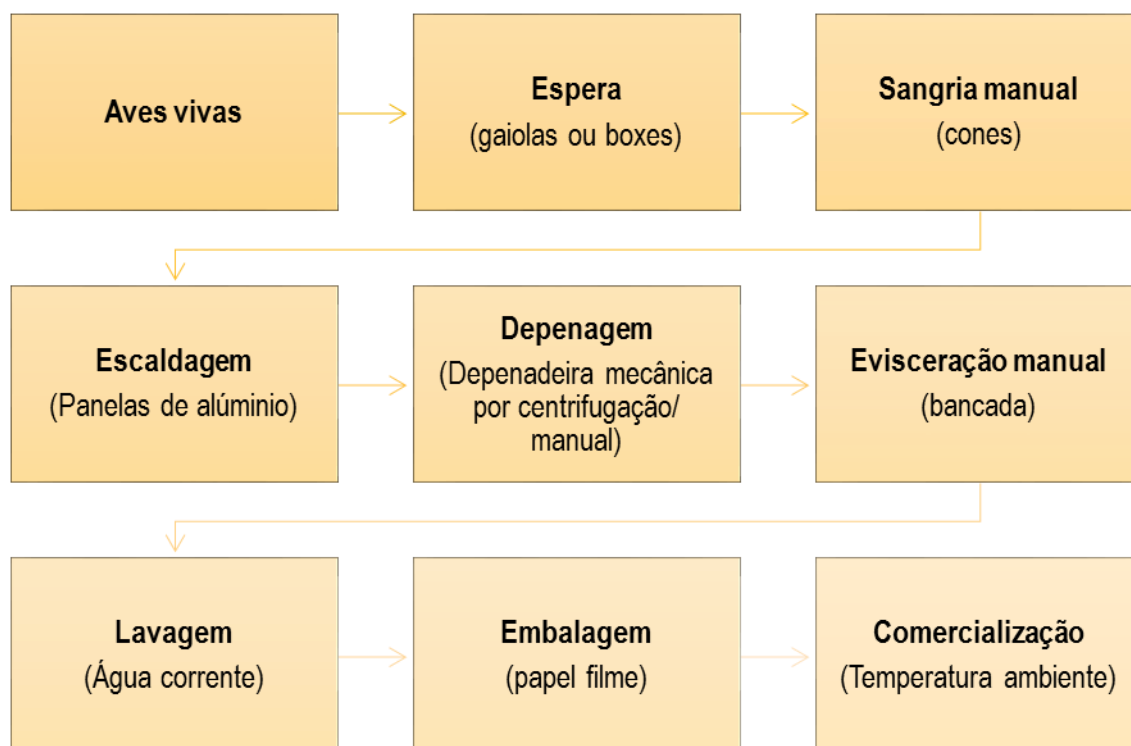


Figura A5 Amplificação de PCR do gene *bla*CTX-M. Linha M: 100 bp DNA, Ladder (Promega), Linha 1: Controle positivo, Linha 2 e 6: amostras negativas, Linhas 3, 4 e 5: amostras positivas, Linha 7: Controle negativo.



APÊNDICE B - Fluxo de processamento do abate artesanal nos mercados públicos da Mesorregião Norte do Maranhão, 2014



APÊNDICE C – Inquérito epidemiológico aplicado em abatedouros artesanais dos mercados públicos da Mesorregião Norte do Maranhão.

Estudo sobre o abate artesanal de frangos realizado em mercados públicos maranhenses

Data ___/___/___ Horário: _____ Conduzida por _____ N° _____

DADOS DO LOCAL

Mercado: _____ Município: _____

N° do estabelecimento: _____ 3) Ponto de referência: _____

Nome do proprietário: _____

QUESTIONÁRIO DO MANIPULADOR

Dados sócio econômicos

5) Gênero: masculino feminino

6) Idade: Menor que 20 anos
 20 a 30 anos
 31 a 40 anos
 41 a 50 anos
 51 a 60 anos
 Acima de 60 anos

7) Grau de Escolaridade Sem escolaridade
 Ensino fundamental incompleto
 Ensino fundamental completo
 Ensino médio incompleto
 Ensino médio completo
 Ensino superior

9) O abate de frango é sua única fonte de renda? Sim Não

10) Renda mensal Menor que 1 salário mínimo
 1 salário mínimo
 2 a 3 salários mínimo
 Acima de 3 salários mínimo

11) Há quanto tempo trabalha nessa atividade? _____

12) Qual foi o motivo para se inserir na atividade? _____

13) Seus pais eram feirantes? Sim Não

14) Recebeu alguma capacitação em Boas Práticas de Manipulação? Sim Não

Dados da produção e abate

15) Quantos frangos são abatidos por dia? _____

16) Que horas inicia e termina o abate? _____

17) Qual é a origem dos frangos vivos? _____

18) Qual é o tempo de espera do frango para o abate? _____

19) O frango passa por algum jejum? Sim Não Tempo: _____

CHECK LIST

CONDIÇÕES HIGIÊNICO SANITÁRIAS DO ESTABELECIMENTO

Equipamentos e utensílios

20) Azulejos claros e íntegros na parede Sim Não

21) Bancada lisa e de material impermeável Sim Não

22) Gaiola das aves próxima ao local de manipulação da carne Sim Não

23) Tábuas e facas de cabo de polietileno ou inox Sim Não

24) Lavatório para mãos Sim Não

25) Balcão frigorífico para venda de frango Sim Não

26) Os equipamentos em bom estado de conservação e higiene Sim Não

Manipulador de Alimentos

27) Vestuário completo, de cor clara e limpo Sim Não

28) Asseio pessoal (unhas curtas, cabelos protegidos, sem barba, sem adornos) Sim Não

29) Lavagem cuidadosa das mãos antes da manipulação Sim Não

30) Hábitos higiênicos (não espirra, cospe, fuma, espirra sobre os alimentos, lava cuidadosa das mãos antes da manipulação) Sim Não

31) Usa luvas descartáveis? Sim Não

Processamento e conservação

32) Aves com sinais de doença Sim Não

- | | | |
|--|------------------------------|------------------------------|
| Jejum pré-abate | <input type="checkbox"/> Sim | <input type="checkbox"/> Não |
| 33) Sangria por tempo igual ou maior a 3 minutos | <input type="checkbox"/> Sim | <input type="checkbox"/> Não |
| 34) Escaldagem por até 4 minutos | <input type="checkbox"/> Sim | <input type="checkbox"/> Não |
| 35) Renovação frequente de água de escaldagem | <input type="checkbox"/> Sim | <input type="checkbox"/> Não |
| 36) Retirada frequente de penas | <input type="checkbox"/> Sim | <input type="checkbox"/> Não |
| 37) Evisceração habilidosa | <input type="checkbox"/> Sim | <input type="checkbox"/> Não |
| 38) Contaminação fecal visível nas carcaças | <input type="checkbox"/> Sim | <input type="checkbox"/> Não |
| 39) Retirada frequente das vísceras da bancada | <input type="checkbox"/> Sim | <input type="checkbox"/> Não |
| 40) Contato frequente de carcaças na evisceração e depenagem | <input type="checkbox"/> Sim | <input type="checkbox"/> Não |
| 41) Comercializado embalado | <input type="checkbox"/> Sim | <input type="checkbox"/> Não |
| 42) Presença visível de pragas | <input type="checkbox"/> Sim | <input type="checkbox"/> Não |