

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

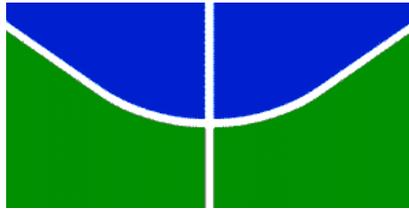
**PESQUISA DE *SALMONELLA* SPP. E CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA
DE CAIXAS DE TRANSPORTE DE FRANGOS DE CORTE NO DISTRITO
FEDERAL E ENTORNO**

LAILAH NUNES SANTANA SAMPAIO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SAÚDE ANIMAL

BRASÍLIA/DF

JULHO/2018



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

**PESQUISA DE *SALMONELLA* SPP. E CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA
DE CAIXAS DE TRANSPORTE DE FRANGOS DE CORTE NO DISTRITO
FEDERAL E ENTORNO**

LAILAH NUNES SANTANA SAMPAIO

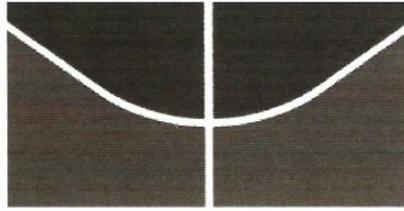
ORIENTADOR (A): Prof^a Dr^a ÂNGELA PATRÍCIA SANTANA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SAÚDE ANIMAL

Publicação: 152/2018

BRASÍLIA/DF

JULHO/2018



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

**PESQUISA DE *SALMONELLA* SPP. E CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA
DE CAIXAS DE TRANSPORTE DE FRANGOS DE CORTE NO DISTRITO
FEDERAL E ENTORNO**

LAILAH NUNES SANTANA SAMPAIO

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA AO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE
ANIMAL, COMO PARTE DOS REQUISITOS
NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE
EM SAÚDE ANIMAL**

APROVADA POR:



**ANGELA PATRÍCIA SANTANA, PROF. DR. UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
(ORIENTADOR)**



**SIMONE PERECMANIS, PROF. DR. UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
(EXAMINADOR INTERNO)**



**GIANE REGINA PALUDO, PROF. DR. UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
(EXAMINADOR INTERNO NÃO VINCULADO AO PROGRAMA)**

BRASÍLIA/DF, 05 DE JULHO DE 2018

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA E CATALOGAÇÃO

SAMPAIO, L. N. S. **Pesquisa de *Salmonella* spp. e caracterização microbiológica de caixas de transporte de frangos de corte no Distrito Federal e Entorno.** Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2018, 52 p. Dissertação de Mestrado.

Documento formal, autorizando reprodução desta dissertação de mestrado para empréstimo ou comercialização, exclusivamente para fins acadêmicos, foi passado pelo autor à Universidade de Brasília e acha-se arquivado na Secretaria do Programa. O autor reserva para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor. Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

Samapio, Lailah Nunes Santana

Pesquisa de *Salmonella* spp. e caracterização microbiológica de caixas de transporte de frangos de corte no Distrito Federal e Entorno. / Lailah Nunes Santana; orientação de Ângela Patrícia Santana – Brasília, 2018.53p.: il.

Dissertação de Mestrado (M) – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2018.

1. *Salmonella* spp. 2. Caixas de transporte. 3. Resistência antimicrobiana

I. SAMPAIO, L. N. S. II. Pesquisa de *Salmonella* spp. e caracterização microbiológica de caixas de transporte de frangos de corte no Distrito Federal e Entorno.

CDD ou CDU

Agris / FAO

Ao meu marido, Marcito, amor da
minha vida, meu suporte e apoio em
todo tempo e circunstância.

À minha filha, Rebeca, o raio de sol que
ilumina minha vida.

Aos meus pais, os alicerces da minha
existência.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus, o autor da minha vida e fé, pelo amor e cuidado dispensados a mim em todos os momentos da minha vida.

Ao meu marido e companheiro, Marcito, por sempre ter me apoiado na jornada do mestrado, cuidando da Rebeca a fim de que eu conseguisse me dedicar à pesquisa e compreendendo as ausências. Certamente sem sua ajuda eu não teria chegado até aqui!

Aos meus lindos pais, João e Mirian, por sempre terem sido os melhores pais que alguém poderia ter. Por terem sempre valorizado a minha educação e me apoiado em todas as escolhas e sonhos.

À minha tão amada filha, Rebeca, por encher meus dias com vida, muita luz, amor, risos e brincadeiras. Por me fazer querer ser melhor a cada dia. Você faz minha alma sorrir sempre!

À minha tão querida orientadora, Ângela Patrícia Santana, por ter sido tão presente e disponível em todo o período do mestrado. Muito obrigada por ter me acolhido e acreditado no meu trabalho. Tenho plena certeza que tenho um modelo de profissional exemplar para a minha vida, sempre muito criteriosa, correta e compreensiva.

Aos meus amigos Fabiana, Fellipe, Anna Paula e Raisia que, mesmo de longe, sempre estiveram na torcida por mim.

Aos queridos companheiros de laboratório, Virgílio, Emília, Margareti, Milena e Hayanna, muito obrigada por sempre terem dado aquela força com a rotina do experimento e pelo companheirismo na bancada.

Às queridíssimas Nara e Joana, por sempre terem me ajudado durante a realização do experimento. Vocês são presentes que a UnB me deu!

A toda equipe do Laboratório de Microbiologia Médica Veterinária da Universidade de Brasília pela contribuição na execução das análises.

A CAPES pelo apoio financeiro.

RESUMO

Os objetivos desse trabalho foram verificar a presença de *Salmonella* spp. e promover a caracterização microbiológica em piso de caixas de transporte de frangos de corte da região do Distrito Federal e Entorno, ainda analisar o perfil de resistência antimicrobiana por meio do teste de antibiograma nos microrganismos isolados e identificados. 62 amostras de swabs de piso das caixas de transporte de frangos das granjas para os abatedouros foi analisado, coletadas ao longo de 4 visitas em 2 abatedouros frigoríficos da região. A pesquisa de *Salmonella* spp. e a caracterização microbiológica foram realizadas segundo metodologia descrita por Baron et al. (1994) e Koneman et al. (2001); o teste de susceptibilidade antimicrobiana nos microrganismos isolados foi executado por meio da técnica de disco-difusão de Kirby-Bauer (Bauer et al., 1966) em ágar Mueller-Hinton, conforme recomendações do “Clinical and Laboratory Standards Institute” (CLSI, 2016) com 19 bases químicas distintas. Nas 62 amostras de swabs de piso de caixas de transporte, não foram encontradas *Salmonella* spp. Na caracterização microbiológica das 62 amostras de swabs, foi encontrado um total de 160 cepas bacterianas, sendo 65/160 de *Escherichia coli* (40,62%), 48/160 de *Staphylococcus Coagulase Negativo* (30%), 18/160 de *Streptococcus* sp. (11,25%), 6/160 de *Proteus mirabilis* (3,75%), 4/160 de *Morganella morganii* (2,50%), 3/160 de *Hafnia alvei* (1,87%), 2/160 de *Bacillus* sp. (1,25%), 2/160 de *Citrobacter farmeri* (1,25%), 1/160 de *Shigella sonnei* (0,62%), 1/160 de *Citrobacter koseri* (0,62%), 1/160 de *Micrococcus* sp. (0,62%), 1/160 de *Shigella fleneri* (0,62%), 1/160 de *Providencia stuartii* (0,62%), 1/160 de *Shigella* Grupos A, B, C (0,62%), 1/160 de *Yersinia pseudotuberculosis* (0,62%), 1/160 de *Escherichia fergusonii* (0,62%), 1/160 de *Citrobacter diversus* (0,62%), 1/160 de *Citrobacter sedlaki* (0,62%), 1/160 de *Shigella dysenteriae* (0,62%), 1/160 de *Enterobacter agglomerans* (0,62%). Todos os microrganismos isolados nessa pesquisa mostraram um fenótipo de resistência múltipla a antimicrobianos, sendo a *Escherichia coli* a única a apresentar resistência a todas as 19 bases químicas testadas.

Palavras-Chave: *Salmonella* spp., caixas de transporte, abatedouro frigorífico de frango, resistência antimicrobiana

ABSTRACT

The objectives of this study were to verify the presence of *Salmonella* spp. and to promote the microbiological characterization in the floor of transport crates of broilers of the Federal District and Entorno, to analyze the profile of antimicrobial resistance by means of the antibiogram test in the microorganisms isolated and identified. 62 samples of transport crates floor swabs from the farms to the slaughterhouses were analyzed, collected during 4 visits to 2 slaughterhouses in the region. The *Salmonella* spp. Research and microbiological characterization were performed according to a methodology described by Baron et al. (1994) and Koneman et al. (2001); the antimicrobial susceptibility test in the isolated microorganisms was performed using the Kirby-Bauer disk-diffusion technique (Bauer et al., 1966) on Mueller-Hinton agar, according to the recommendations of the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2016) with 19 different chemical bases. In the 62 samples of transport crates floor swabs, *Salmonella* spp. were not found. In the microbiological characterization of the 62 swab samples, a total of 160 bacterial strains was found, 65/160 of *Escherichia coli* (40,62%), 48/160 of *Staphylococcus* coagulase-negative (30%), 18/160 of *Streptococcus* sp. (11,25%), 6/160 of *Proteus mirabilis* (3,75%), 4/160 of *Morganella morganii* (2,50%), 3/160 of *Hafnia alvei* (1,87%), 2/160 of *Bacillus* sp. (1,25%), 2/160 of *Citrobacter farmeri* (1,25%), 1/160 of *Shigella sonnei* (0,62%), 1/160 of *Citrobacter koseri* (0,62%), 1/160 of *Micrococcus* sp. (0,62%), 1/160 of *Shigella fleneri* (0,62%), 1/160 of *Providencia stuartii* (0,62%), 1/160 of *Shigella* Grupos A, B, C (0,62%), 1/160 of *Yersinia pseudotuberculosis* (0,62%), 1/160 of *Escherichia fergusonii* (0,62%), 1/160 of *Citrobacter diversus* (0,62%), 1/160 of *Citrobacter sedlaki* (0,62%), 1/160 of *Shigella dysenteriae* (0,62%), 1/160 of *Enterobacter agglomerans* (0,62%). All the microorganisms isolated in this study showed a phenotype of multiple antimicrobial resistance, with *Escherichia coli* being the only one to present resistance to all 19 chemical bases tested.

Key words: *Salmonella* spp., transport crates, poultry slaughterhouse, antimicrobial resistance.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Microrganismos isolados e identificados em 62 amostras de *swabs* de piso de caixas de transporte de frangos de corte de abatedouros frigoríficos localizados na região do Distrito Federal e Entorno27

Tabela 2 – Teste de susceptibilidade antimicrobiana realizado em 65 cepas de microrganismos isolados de caixas de transporte de frangos de corte na região do Distrito Federal e Entorno35 e 36

SUMÁRIO

CAPITULO I	1
I INTRODUÇÃO	1
II REFERENCIAL TEÓRICO	4
1. <i>Salmonella</i> spp.: características gerais	4
2. Doenças em humanos associadas à <i>Salmonella</i> spp.	5
3. <i>Salmonella</i> spp. no processo de abate de aves e a importância das caixas de transporte como fonte de contaminação	6
4. Legislação para o controle de <i>Salmonella</i> spp. no abatedouro frigorífico de frangos de corte.....	8
5. A resistência antimicrobiana relacionada à avicultura.....	9
III OBJETIVOS	12
IV REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	13
CAPITULO II	20
I INTRODUÇÃO	20
II MATERIAL E MÉTODOS	23
1. Origens das amostras	23
2. Metodologia de isolamento microbiológico.....	23
3. Realização do teste de susceptibilidade antimicrobiana	24
III RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
1. Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp e isolamento microbiológico das amostras de piso de caixas de transporte.....	26
2. Perfil de resistência aos antimicrobianos dos microrganismos isolados de caixas de transporte de frangos de corte da região do Distrito Federal e Entorno	34
IV CONCLUSÕES	42
V REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43

CAPÍTULO I

I. INTRODUÇÃO

A avicultura no Brasil é uma importante atividade econômica, uma vez que, conforme dados da Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA), o Brasil é o segundo maior produtor mundial de frango e o líder global em exportação. Do total produzido, 66% é consumido internamente e 34% destina-se a mais de 150 países (ABPA, 2017). Para garantir a manutenção do mercado consumidor da carne de frango brasileira, deve-se garantir o fornecimento de produtos com padrão de qualidade estável, o atendimento das exigências quanto à matéria prima e seus produtos e a segurança do consumidor (Oliveira et al., 2012). Outro ponto relevante é que a carne de frango é um produto fundamental na dieta de muitos povos, o que reflete em um consumo cada vez maior pela população mundial (Souza et al., 2014).

A carne de frango e outros produtos de origem animal (POA's) podem ser veículos de transmissão de microrganismos patogênicos, os causadores de doenças transmitidas por alimentos (DTA's) (Souza et al., 2014). Segundo Welker et al. (2010), os produtos cárneos são os alimentos mais frequentemente incriminados em surtos (36%), sendo a carne de frango a segunda principal fonte (30%). Hoffmann et al. (2017) estimam que os produtos do frango são responsáveis por 20% das salmoneloses e por mais de 40% das campilobacterioses, ambas de origem alimentar. Por isso, há uma grande preocupação no abate de frangos relacionada à obtenção de carnes com o menor nível de contaminação possível em todas as etapas do processamento desses animais (Gonçalves et al., 1998).

Conforme Souza et al. (2014), é possível a ocorrência de contaminação do próprio ambiente do abatedouro frigorífico, dos trabalhadores que manipulam os

produtos e também da contaminação cruzada de aves contaminadas. Muitas pesquisas recentemente têm demonstrado o papel das diferentes etapas do abate tecnológico de frangos como fonte de microrganismos patogênicos e/ou de contaminantes, evidenciando a maior taxa de contaminação nas primeiras etapas de operações de um abatedouro (Buhr et al., 2000; Svobodová et al. 2012; Pacheco, 2013). Corry et al. (2002), Slader et al. (2002) e Olsen et al. (2003) mostraram que as caixas de transporte de frangos foram encontradas contaminadas com *Salmonella* após limpeza e desinfecção ou na chegada à granja, apesar de terem sido higienizadas na indústria. Pesquisa realizada por Rasschaert et al. (2008) mostrou que, quando lotes de frangos negativos para *Salmonella* foram abatidos, as carcaças estavam, em alguns casos, contaminadas com esse microrganismo, o que indica possível contaminação cruzada dos equipamentos de abate ou das caixas de transporte. Sorotipos de *Salmonella* encontrados em caixas de transporte já foram encontrados em carcaças, como no estudo realizado por Heyndrickx et al (2007) na Bélgica que evidenciou essa transferência.

O amplo uso de agentes antimicrobianos em animais produtores de alimentos está associado com o aumento da resistência antimicrobiana em patógenos de origem alimentar, o que subsequentemente pode ser transferido para os humanos (Anderson et al. (2003). Isto tem sido uma grande preocupação na comunidade médica e científica de todo o mundo, uma vez que a capacidade da indústria em produzir novas drogas não acompanha esse ritmo (Freitas, et al. 2004).

Trabalhos no mundo e no Brasil foram realizados com o objetivo de pesquisar microrganismos patogênicos contaminando a planta industrial como *Salmonella* e *Campylobacter* (Olsen et al., 2003; Hansson et al., 2005; Heyndrickx et al., 2007; Rasschaert et al., 2008; Chotinun et al., 2014; Cisco, 2015; Ribeiro, 2017), inclusive

aqueles que avaliaram o papel das caixas de transporte como possível fonte de contaminação desses microrganismos ((Slader et al., 2002; Olsen et al., 2003; Ellerbroek et al., 2010; Patriarchi et al., 2011). Porém há poucos relatos sobre os diferentes microrganismos presentes nas caixas de transporte, que podem servir de contaminação para as aves vivas e futuras carcaças processadas, e escassos estudos sobre o perfil de resistência antimicrobiana deles. Portanto, os objetivos desse estudo foram verificar a presença de *Salmonella* spp., realizar a caracterização microbiológica de piso de caixas de transporte de frangos de corte da região do Distrito Federal e Entorno e efetuar o teste de susceptibilidade a antimicrobianos dos microrganismos isolados e identificados.

II. REFERENCIAL TEÓRICO

***Salmonella* spp.: características gerais**

As bactérias do gênero *Salmonella* pertencem à família *Enterobacteriaceae*, apresentam-se com formato de pequenos bastonetes Gram negativos, possuindo aproximadamente 2 µm de comprimento e 0,5 µm de diâmetro, não são formadoras de esporos e apresentam flagelos peritríquios que conferem motilidade, com exceção de *S. Pullorum* e *S. Gallinarum* (Forsythe, 2013). Esses microrganismos são anaeróbios facultativos, podendo crescer bem em ambientes aeróbios e anaeróbios, apresentam temperatura de crescimento variando entre 5°C e 47 °C e faixa de pH entre 4,5 e 9,0, porém a faixa de temperatura ideal para crescimento é 35 °C a 37 °C (mesófilos) e de pH entre 6,5 e 7,5 (Franco e Landgraf, 2003).

Quanto às características bioquímicas, grande parte dos sorotipos produz gás a partir da fermentação da glicose e produz ácido sulfídrico (H₂S) a partir da redução do enxofre em ágar tríplice açúcar ferro (TSI) Koneman et al. (2001). São, em sua maioria, catalase e vermelho de metila positivos, capazes de reduzir nitratos a nitrito, de descarboxilar aminoácidos como a lisina e a ornitina, produtores de gás a partir da glicose (com exceção de *S. Typhi*) e conseguem utilizar o citrato como única fonte de carbono (Franco e Landgraf, 2003). Além disso, as salmonelas são oxidase negativas, não produzem urease, indol e fenilalanina e não fermentam sacarose e lactose (CAMPOS, 2002).

A classificação e nomenclatura desses microrganismos já variaram bastante ao longo do tempo. Atualmente, é usada a classificação baseada em estudos moleculares, separando o gênero em duas espécies, que são *S. enterica* e *S. bongori* (Bergey's manual, 2012). Ainda há uma subdivisão em subespécies, que ocorre na *S.*

entérica, porém, rotineiramente, utiliza-se uma divisão em sorotipos, proposta no esquema de Kaufmann & White, 2001. O referido esquema separa as salmonelas baseado na composição antigênica da superfície celular, onde são encontrados os antígenos somático (O), flagelar (H) e capsular (Vi) (Trabulsi, 2005; Bergey's manual, 2012).

Doenças em humanos associadas à *Salmonella* spp.

Salmonelose é uma gastroenterite causada pela bactéria *Salmonella*, caracterizada por diarreia, febre e dor abdominal ocorrendo em 12 a 72 horas após infecção (CDC). Na maioria dos casos, em indivíduos saudáveis, essa infecção tem um curso auto limitante de 4 a 7 dias. Porém, em hospedeiros susceptíveis, certas cepas não-tifoides de *Salmonella* podem se disseminar sistemicamente para outros locais no corpo. Embora isto seja mais comum em pessoas com sistema imunológico comprometido ou com condições médicas subjacentes, a disseminação sistêmica de cepas não-tifoides de *Salmonella* também pode ser observada em pessoas saudáveis (Dekker e Frank, 2015).

A febre tifoide, causada apenas por um sorotipo, *S. Typhi*, é caracterizada por febre prolongada, cefaleia, mialgia, artralgia, anorexia, alterações do funcionamento intestinal (constipação ou diarreia), mal-estar geral e hepato/esplenomegalia (Souza et al., 2010). Caso essa doença não seja tratada, pode evoluir por semanas ou até meses, resultando em complicações que podem levar ao óbito (Chanh et al., 2004).

Os sorotipos *S. Typhimurium* e *S. Paratyphi* podem causar a enterocolite ou febre entérica em humanos, devido à capacidade de invadir a mucosa intestinal e alcançar a circulação sanguínea (Black, 2002). Os sintomas começam a ser

manifestados após um período de incubação de 1 a 10 dias, predominando a febre e calafrios, que podem perdurar por até 3 semanas (Black, 2002).

As salmonelas infectam o ser humano e praticamente todos os animais, sejam domésticos ou selvagens e são predominantes em animais de produção como aves, suínos e bovinos, e também em pets, incluindo cães e gatos, aves, répteis e insetos (Pelczar, 1996). Por isso, a infecção por *Salmonella* em humanos é geralmente oriunda do consumo de água e alimentos contaminados de origem animal, principalmente ovos, carnes, aves e leite (Trabulsi, 2005).

***Salmonella* spp. no processo de abate de aves e a importância das caixas de transporte como fonte de contaminação**

O consumo da carne de frango contribui significativamente para a transmissão de *Salmonella* spp. para humanos (Heyndrickx et al., 2007). Kimura et al. (2004) demonstraram que o consumo de frango fora de casa é um fator de risco para infecções esporádicas por *S. Enteritidis* nos Estados Unidos. A salmonela pode ter origem em diferentes pontos da cadeia produtiva do frango como incubatório, fábrica de rações, granjas e abatedouro, disseminando-se amplamente por esses setores e persistindo nos ambientes, haja vista sua capacidade de transmissão vertical e horizontal (Cardoso e Tessari, 2008). No caso das aves, a *Salmonella* spp. pode estar presente na cloaca, trato digestório, ou aderida à pele, penas e pés das aves, o que é um agravante para a indústria avícola, já que esse microrganismo pode ser transferido para as carcaças ao longo do processamento industrial e representar um risco à saúde pública (Rezende et al., 2005).

O transporte de frangos da granja para o abatedouro frigorífico é um momento de muito estresse para os animais, devido à condução do motorista do caminhão, que

muitas vezes não é adequada ao transporte de carga viva e à superlotação das caixas de transporte, o que resulta no aumento das taxas de excreção de *Salmonella* spp. por lotes infectados (Mulder, 1995). O jejum pré-abate, preconizado pelo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), tem como intuito reduzir o conteúdo gastrointestinal, a fim de minimizar a possibilidade de contaminação fecal de carcaças durante o abate, principalmente na evisceração devido à ruptura de alças intestinais (Baião et al., 1992). Contudo, ainda que esse período de jejum seja respeitado, é inevitável a contaminação das caixas de transporte com material fecal, penas e outros detritos que podem ser transportados até a indústria (Berrang e Northcutt, 2006; Allen et al., 2008; Cisco, 2015; Dianin, 2016).

Procedimentos rotineiros de limpeza são realizados na etapa de lavagem e desinfecção das caixas de transporte posteriormente à pendura das aves na nória e previamente ao seu carregamento em caminhões, a fim de que retornem às granjas livres dos principais microrganismos patogênicos. Essa etapa envolve a lavagem com água, imersão em detergente por um período de minutos, lavagem com água em alta pressão, tratamento com solução desinfetante e lavagem final com água (Olsen et al., 2003).

A ausência da etapa de lavagem e desinfecção das caixas de transporte ou a ineficiência nessas operações pode promover a permanência de microrganismos patogênicos e a contaminação cruzada de lotes subsequentes durante o carregamento e transporte (Corry et al., 2002; Slader et al., 2002; Olsen et al., 2003; Rasschaert et al., 2007; Ellerbroek et al., 2010; Patriarchi et al., 2011). Rigby et al. (1982) avaliaram caixas de transporte de plástico antes do carregamento em dois ensaios experimentais no Canadá, encontrando 98 caixas de um total de 99 positivas para *Salmonella* em um dos ensaios, enquanto 46 caixas de um total de 52 foram

positivas no outro ensaio. Heyndrickx et al. (2007) concluíram em sua investigação sobre a transmissão de *Salmonella* do incubatório ao abatedouro a existência de pelo menos três possíveis fontes de *Salmonella* spp. em carcaças de frango na Bélgica: o animal vivo oriundo da granja, as caixas utilizadas no transporte e o abatedouro propriamente dito.

Apesar das pesquisas demonstrarem a redução significativa da contaminação microbiana das carcaças ao longo das etapas de abate, a microbiota das aves vivas impacta diretamente a carga microbiana do produto final (Berrang e Northcutt, 2006). Diversos estudos demonstram a presença dos mesmos sorovares de *Salmonella* spp. tanto nas caixas de transporte de frangos quanto nas carcaças após o processamento (Shackelford, 1988; Bailey et al., 2001; Roy et al., 2002;). Por conseguinte, é de extrema relevância que a indústria avícola direcione atenção e esforços para uma etapa de higienização de caixas de transporte bastante eficiente, o que contribuirá na redução da contaminação microbiana durante o processamento (Berrang e Northcutt, 2006).

Legislação para o controle de *Salmonella* spp. no abatedouro frigorífico de frangos de corte

Na década de 90, foram estabelecidos o Regulamento técnico sobre as condições higiênico-sanitárias e de boas práticas de fabricação para estabelecimentos elaboradores/industrializadores de alimentos (Brasil, 1997) e o Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle – APPCC (Brasil, 1998). Devido à necessidade de atendimento a compromissos internacionais assumidos, às novas exigências sanitárias e aos requisitos de qualidade ditados tanto pelo mercado interno quanto

pelo externo, o Brasil passou a adotar essas ferramentas de gestão da segurança de alimentos (Brasil, 1998; Dianin, 2016).

Para o monitoramento específico de *Salmonella* spp., primeiramente foi implementada uma análise sistemática e contínua de carcaças de frangos e perus *in natura* para pesquisa da bactéria por meio da Instrução Normativa nº 70 (Brasil, 2003). Esta normativa instituiu também o Programa de Redução de Patógenos, cuja principal função é construir um sistema de informações para avaliação da contaminação dos produtos examinados, viabilizando a determinação do nível adequado de proteção ao agente, o que permite a melhor eficiência das medidas de controle, como componente importante da Análise de Risco Microbiológico (Brasil, 2003). Viu-se, posteriormente, a necessidade de expandir esse monitoramento, reforçando o controle sobre a *Salmonella*, o que foi materializado por meio da Instrução Normativa nº 20 (Brasil, 2016) que instituiu o controle e monitoramento nos estabelecimentos avícolas comerciais de frangos e perus de corte, além do já realizado em estabelecimentos de abate de frangos, galinhas e perus de corte e reprodução.

A resistência antimicrobiana relacionada à avicultura

Agentes antimicrobianos têm sido utilizados em rebanhos e frangos desde a década de 1950 para tratar infecções e melhorar o crescimento e conversão alimentar (Anderson et al., 2003). No caso do uso como promotores de crescimento, a dose fornecida é subterapêutica, uma vez que a quantidade é inferior àquela recomendada para o tratamento de infecções (Young, 1994), o que favorece o surgimento ou aumento da resistência antimicrobiana em microrganismos patogênicos e a dificuldade de ação dessas drogas contra quadros infecciosos (Manie, 1997).

O uso de agentes antimicrobianos em animais produtores de alimentos, que têm um análogo para uso humano, aumenta a probabilidade de que patógenos, cujo reservatório seja animais de produção, desenvolvam resistência cruzada às drogas antimicrobianas usadas na medicina humana (Anderson et al., 2003). A OMS, após uma série de consultas nos anos de 1997, 1999 e 2000, recomendou que, a menos que uma avaliação baseada em riscos demonstra sua segurança, deve ser banido o uso de agentes antimicrobianos pertencentes à classes de drogas utilizadas em pessoas para fins de promoção do crescimento de animais de produção (WHO, 1997; WHO, 1999; WHO, 2000).

Muitos países europeus avançaram em relação ao banimento das drogas antimicrobianas como promotores de crescimento (Anderson et al., 2003). A União Européia proibiu em 1998 a utilização das bases tilosina, espiramicina, bacitracina e virginiamicina como promotores de crescimento, devido à sua semelhança estrutural com agentes usados na medicina humana (European Commission, 1998). Também no ano de 1998, produtores de gado de corte e criadores de frangos da Dinamarca pararam voluntariamente de usar antibióticos como promotores de crescimento (DANMAP, 2000). Já a Suécia proibiu o uso de agentes antimicrobianos para fins de promoção do crescimento no ano de 1986 (Wierup, 1998).

No Brasil, o cloranfenicol foi proibido para uso veterinário e para emprego na alimentação de todos os animais e insetos no ano de 2003 (Brasil, 2003). Os anfenicóis, tetraciclina, beta lactâmicos, quinolonas e sulfonamidas sistêmicas foram proibidos de serem utilizados como aditivos zootécnicos melhoradores de desempenho em 2009 (Brasil, 2009). A droga eritromicina também teve seu uso na alimentação animal como melhorador de desempenho proibido no ano de 2012 pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (Brasil, 2012).

Microrganismos comensais, que são naturalmente da flora do hospedeiro, constituem um enorme potencial reservatório de genes de resistência para bactérias (Anderson et al., 2003). A prevalência de resistência a antibióticos nessas bactérias de humanos e animais é considerada como um bom indicador da pressão seletiva do uso de antibióticos e reflete o potencial para resistência em futuras infecções (Hummel et al., 1986; Murray, 1992). Muitas bactérias resistentes apresentam elementos genéticos móveis como plasmídeos e transposons (Anderson et al., 2003). Como o reservatório de bactérias comensais resistentes aumenta, o reservatório do plasmídeo torna-se também maior, o que permite a transferência mais frequente de resistência a bactérias patogênicas, incluindo *Salmonella* e *Shigella* (Anderson et al., 2003). O isolado predominante da flora fecal aeróbia em humanos e na maioria dos animais, a *Escherichia coli*, demonstrou sua capacidade de transferir genes de resistência a outras espécies, incluindo bactérias patogênicas (Hummel, et al., 1986; Tauxe et al., 1989; Nikolich et al., 1994).

III. OBJETIVOS

Objetivos gerais

Realizar a pesquisa de *Salmonella* spp. em piso de caixas de transporte de frangos de corte da região do Distrito Federal e Entorno, bem como a caracterização microbiológica das caixas de transporte e analisar o perfil de resistência antimicrobiana dos microrganismos isolados e identificados.

Objetivos específicos

- Pesquisa de *Salmonella* spp. e caracterização microbiológica em amostras de *swabs* de piso de caixas de transporte de frangos de corte;
- Realização do teste de susceptibilidade antimicrobiana nas cepas bacterianas isoladas e identificadas.

IV. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABPA. 2017 Relatório Anual. Disponível em: http://abpa-br.com.br/storage/files/3678c_final_abpa_relatorio_anual_2016_portugues_web_reduzido.pdf>. Acesso em 17 abr. 2018.

ALLEN, V. et al. Effect of ultrasonic treatment during cleaning on the microbiological condition of poultry transport crates. **British Poultry Science**, v. 49, n. 4, p. 423-428, jul. 2008.

ANDERSON, A. D. et al. Public Health Consequences of Use of Antimicrobial Agents in Food Animals in the United States. **Microbial Drug Resistance**, v. 9, n. 4, p. 373-379, 2003.

BAIÃO, N. C. et al. Efeitos do tipo e período de jejum sobre a perda do peso vivo e rendimento de carcaça de frango de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, v.44, n.3, p.205-213, 1992.

BAILEY, J. S.; STERN, N. J.; FEDORKA-CRAY, P.; CRAVEN, S. E.; COX, N. A.; COSBY, D. E.; LADELY, S.; MUSGROVE, M. T. Sources and Movement of *Salmonella* through Integrated Poultry Operations: A Multistate Epidemiological Investigation, **Journal of Food Protection**, v.64, n.11, p.1690-1697, 2001.

BERGEY'S MANUAL. Bergey's manual of systematic bacteriology, v.5, 2 ed. 2012.

BERRANG, J. K. Northcutt M. E. Influence of a Chicken Transport Cage-Washing System on Wastewater Characteristics and Bacteria Recovery from Cage Flooring. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 15, n. 3, p. 457-463, out. 2006.

BLACK, J. G. Microbiologia – Fundamentos e Perspectivas, 4 ed. Guanabara. 2002.

BRASIL 1997. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Portaria no 368, de 04 de setembro de 1997. Aprova o Regulamento Técnico sobre as condições higiênico-sanitárias e de boas práticas de fabricação para estabelecimentos elaboradores/industrializadores de alimentos. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=3015>. Acesso em 21 maio. 2018.

BRASIL 1998. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Portaria no 46, de 10 de fevereiro de 1998. Institui o Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle - APPCC. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=1139>. Acesso em 21 maio. 2018.

BRASIL 2003. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa no 70, de 06 de outubro de 2003. Institui o Programa de Redução de Patógenos – Monitoramento Microbiológico e Controle de *Salmonella* sp. em Carcaças de Frangos e Perus. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=3136>. Acesso em 21 maio. 2018.

BRASIL 2009. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 26, de 09 de julho de 2009. Regulamento Técnico para a Fabricação, o Controle de Qualidade, a Comercialização e o Emprego de Produtos Antimicrobianos de Uso Veterinário, 2009. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/arquivos-alimentacao-animal/legislacao/instrucao-normativa-no-26-de-9-de-julho-de-2009.pdf> Acesso em 10 jun. 2018.

BRASIL 2012. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa no 14, de 17 de maio de 2012. Proibir a importação, fabricação e o uso das substâncias antimicrobianas espiramicina e eritromicina com finalidade de aditivo zootécnico melhorador de desempenho na alimentação animal. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/arquivos-alimentacao-animal/legislacao/instrucao-normativa-no-14-de-17-de-maio-de-2012.pdf> Acesso em 12 jun. 2018.

BRASIL 2016. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa no 20, de 21 de outubro de 2016. Ficam estabelecidos o controle e o monitoramento de *Salmonella* spp. nos estabelecimentos avícolas comerciais de frangos e perus de corte e nos estabelecimentos de abate de frangos, galinhas, perus de corte e reprodução. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/inspecao/produtos-animal/controle-de-patogenos/arquivos-controle-de-patogenos/SalmonellaIN202016Salmonella.pdf>. Acesso em 21 maio. 2018.

BUHR, R. J. et al. Influence of Flooring Type During Transport and Holding on Bacteria Recovery from Broiler Carcass Rinses Before and After Defeathering. **Poultry Science**, v. 79, n. 3, p. 436-441, 2000.

CAMPOS, L.C. *Salmonella*. In. TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F.; GOMPERTZ, O.F.; CANDEIAS, J.A.N. **Microbiologia**. 3 ed. Atheneu, São Paulo. 2002., p. 229 – 234.

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

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. *Salmonella*. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/salmonella/general/>>. Acesso em: 14 jun. 2018.

CHANH, N.Q., et al. A clinical microbiological and pathological study of intestinal perforation associated with typhoid fever. *Clinical Infectious Diseases*, v. 39, n. 1, p. 61-67, jul. 2004.

CHOTINUN, S. et al. Prevalence and antimicrobial resistance of salmonella isolated from carcasses, processing facilities and the environment surrounding small scale poultry slaughterhouses in thailand. **The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**, v. 45, n. 6, p. 1392-1400, nov. 2014.

CISCO, I. C. Detecção de *Campylobacter* spp. em amostras de abatedouros avícolas. Dissertação de mestrado. Universidade de Passo Fundo. 2015.

CORRY, J. et al. Sources of salmonella on broiler carcasses during transportation and processing: modes of contamination and methods of control. **Journal of Applied Microbiology**, v. 92, p. 424-432, 2002.

DANMAP 2000—consumption of antimicrobial agents and resistance to antimicrobial agents in bacteria from food animals, food and humans in Denmark: report from Statens Serum Institut, Danish Veterinary and Food Administration, **Danish Medicines Agency and Danish Veterinary Laboratory**, 2001.

DEKKER, John P.; FRANK, Karen M.. *Salmonella, Shigella, and Yersinia*. **Clinics in laboratory Medicine**, v. 35, n. 2, p. 225-246, jun. 2015.

DIANIN, K. C. S. Indicadores de higiene e pesquisa de *Salmonella* spp. em linha de abate e processamento de frango de corte. Dissertação de mestrado. Univerisdade Federal do Paraná. 2016.

ELLERBROEK, L. I.; LIENAU, J.-A.; KLEIN, G. *Campylobacter* spp. in Broiler Flocks at Farm Level and the Potential for Cross-Contamination During Slaughter. **Zoonoses and public health**, v. 57, n. 7, p. 81-88, dez. 2010.

EUROPEAN COMMISSION. Commission regulation of amending council directive 70/524/EEC concerning additives in feedingstuffs as regards withdrawal of the authorization of certain antibiotics. Document No.: VI/7767/98. European Commission, Brussels, Belgium.

FORSYTHE, S. J. Microbiologia da segurança dos alimentos. 2 ed. Artmed, Porto Alegre. 2013. 602 p.

FRANCO, B. D. G. M., LANDGRAF, M. Microbiologia dos Alimentos. 2 ed. Atheneu, São Paulo. 2003. 182 p.

FREITAS, M. F. L. et al. Sensibilidade antimicrobiana de cepas de *Staphylococcus* spp. isoladas de carcaças de frango comercializadas em Recife. **Arquivo brasileiro de medicina veterinária e zootecnia**, v. 56, n. 3, p. 405-407, 2004.

GONÇALVES, P. M. R.; FRANCO, R. M.; ZAMBORLINI, L. C. Enumeração de *Enterococos* e coliformes fecais, pesquisa de *Salmonella* e indicação presuntiva de *Proteus*, em cortes e miúdos de frangos (*Gallus domesticus*) congelados. **Revista Higiene Alimentar**. v. 12, n. 54, p. 42-47, mar./abr., 1998.

HEYNDRICKX, M. et al. Multiple Typing for the Epidemiological Study of the Contamination of Broilers with *Salmonella* from the Hatchery to the Slaughterhouse. **Journal of Food Protection**, v. 70, n. 2, p. 323-334, 2007.

HOFFMANN, S. et al. Attribution of global foodborne disease to specific foods: Findings from a World Health Organization structured expert elicitation. **PloS ONE**, v. 12, n. 9, set. 2017.

HUMMEL, R., H. Tschape, and W. WITTE. Spread of plasmid-mediated nourseothricin resistance due to antibiotic use in animal husbandry. **Journal of basic microbiology**, v. 26, p. 461–466. 1986.

KIMURA, A. C., V. et al. Swerdlow, and the Emerging Infections Program FoodNet Working Group. Chicken consumption is a newly identified risk factor for sporadic *Salmonella enterica* serotype Enteritidis infections in the United States: a case-control study in FoodNet sites. **Clinical infectious diseases**, v. 38, n. 3, p. 244–252. 2004.

KONEMAN E. W. et al. Diagnóstico microbiológico. 5ª Ed. Médici, 2001. 1465 p.

MANIE, T. et al. Antimicrobial resistance of bacteria isolated from slaughtered and retail chickens in south Africa. **Letters in Applied Microbiology**, v. 26, p. 253-258, 1997.

MULDER, R. W. A. W. Impact of transport and related stresses on the incidence and extent of human pathogens in pig meat and poultry. **Journal of Food Safety**. v. 15, p. 239–246, 1995.

MURRAY, B.E. Problems and dilemmas of antimicrobial resistance. **Pharmacotherapy**, v. 12, p. 86-93, 1992.

NIKOLICH, M.P., G. Hong, N.B. Shoemaker, *et al.* Evidence for natural horizontal transfer of *tetQ* between bacteria that normally colonize humans and bacteria that normally colonize livestock. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 60, p. 3255–3260, 1994.

NORTHCUTT, J. K.; JONES D. R. A survey of water use and common industry practices in commercial broiler processing facilities. **Journal Applied Poultry Research**, v. 13, p. 48–54, 2004.

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

OLSEN, J. et al. Cross-contamination with Salmonella on a broiler slaughterhouse line demonstrated by use of epidemiological markers. **Journal of applied microbiology**, v. 94, n. 5, p. 826-835, jan. 2003.

PACHECO, D. O. Qualidade microbiológica da cadeia de carne de aves da região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas. 2013.

PATRIARCHI, A. et al. Molecular Characterization and Environmental Mapping of Campylobacter Isolates in a Subset of Intensive Poultry Flocks in Ireland. **Foodborne pathogens and disease**, v. 8, n. 1, p. 99-108, 2011.

PELCZAR, M. J., CHAN, E. C. S., KIEG, N. R. Microbiologia – Conceitos e Aplicações – volume 2, 2 ed. Makron Books. 1996.

RASSCHAERT, G.; HOUF, K.; ZUTTER, L. De. Impact of the slaughter line contamination on the presence of *Salmonella* on broiler carcasses. **Journal of Applied Microbiology**, v. 103, p. 333-341, 2007.

RASSCHAERT, G. et al. Contamination of Carcasses with *Salmonella* during Poultry Slaughter. **Journal of Food Protection**, v. 71, n. 1, p. 146-152, jan. 2008.

REZENDE, C.S.M. et al. Sorovares de *Salmonella* isolados de carcaças de frangos de corte abatidos no estado de Goiás, e perfil de resistência a antimicrobianos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v.100, n.555- 556, p. 199-203, 2005.

RIBEIRO, M. L. R. Qualidade das carcaças de frango de abatedouros e pontos de venda de Goiás: pesquisa de *Campylobacter* termotolerantes. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Goiás. 2017.

RIGBY, C. E. et al. The relationship of *Salmonella* from infected broiler flocks, transport crates or processing plants to contamination of eviscerated carcasses. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, v. 46, p. 272–278, 1982.

ROY, P. et al. Results of *Salmonella* isolation from poultry products, poultry, environments and other characteristics. **Avian Diseases**, v.46, n.1, p.17-24, 2002.

SALES, Ronaldo De Oliveira; PORTO, Ernani. Bacterial dissemination. main pathogens and hygiene in chicken slaughter: a review. **Revista brasileira de higiene e sanidade animal**, v. 01, n. 01, p. 14-36, jan. 2007.

SHACKELFORD, A.D. Modifications of processing methods to control *Salmonella* in poultry. **Poultry Science**, v. 67, n. 6, p. 933-935, 1988.

SLADER, J. et al. Impact of Transport Crate Reuse and of Catching and Processing on *Campylobacter* and *Salmonella* Contamination of Broiler Chickens. **Applied and environmental microbiology**, v. 68, n. 2, p. 713-719, fev. 2002.

SOUZA, C. D. O. et al. Resistência antimicrobiana de *Salmonella* Typhi identificadas no Estado do Pará, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 1, n. 2, jun. 2010.

SOUZA, G. C. D. et al. Característica microbiológica da carne de frango. **Agropecuária científica no semiárido**, UFCG, v. 10, n. 2, p. 12-17, abr./jun. 2014.

SVOBODOVÁ, I. et al. Microbiological quality of broiler carcasses during slaughter processing. **Acta Veterinaria Brno**, v. 81, p. 37-42, 2012.

TAUXE, R.V., T.R. Cavanagh, and M.L. Cohen. Interspecies gene transfer in vivo producing an outbreak of multiply resistant Shigellosis. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 160, n. 6, p.1067–1070, dez. 1989.

TRABULSI, L. B., ALTERTHUM, F. Microbiologia. 4 ed. Atheneu, São Paulo. 2005. 780 p.

WELKER, C. A. D. et al. Análise microbiológica dos alimentos envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) ocorridos no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 8, n. 1, p. 44-48, jan./mar. 2010.

WIERUP, M. Preventive methods replace antibiotic growth promoters: ten years experience from Sweden. **APUA Newsletter**, v. 16, p. 1–4. 1998.

World Health Organization. 1997. The Medical Impact of the Use of Antimicrobials in Food Animals: Report and Proceedings of a WHO Meeting. Berlin, Germany, October 13–17, 1997.

World Health Organization. 1999. Containing Antimicrobial Resistance: Review of the Literature and Report of a WHO Workshop on the Development of a Global Strategy for the Containment of Antimicrobial Resistance. Geneva, Switzerland, February 4–5, 1999.

World Health Organization. 2000. WHO Global Principles for the Containment of Antimicrobial Resistance in Animals Intended for Food: Report of a WHO Consultation. Geneva, Switzerland, June 5–9, 2000.

YOUNG, H. K. Do non clinical uses of antibiotics make a difference? **Infect. Control Hosp. Epidemiol.**, v. 15, p. 484-487, 1994.

CAPÍTULO II

I. INTRODUÇÃO

O Brasil ocupa a posição atual de segundo maior exportador de produtos agrícolas e agroalimentares do mundo, atrás apenas dos Estados Unidos da América (FAO, 2015). Neste contexto, a pecuária nacional desempenha importante papel, uma vez que o país se posiciona como maior exportador de carne de frango e terceiro maior de carne bovina, além de ocupar a quarta posição no ranking mundial de exportação de carne suína (BRASIL, 2017).

Segundo dados da Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA), o país produziu, em 2016, 12.900 mil toneladas de carne de frango, determinando o segundo lugar como produtor mundial e exportou 4.383.898 toneladas desse produto, o que o consagrou como líder global. Do total produzido, 66% é consumido internamente e 34% destina-se a mais de 150 países (ABPA, 2017).

Contudo, o consumo de POA's pode representar grande risco à saúde pública, pois estes podem ser importantes fontes de patógenos causadores de DTA's (Rossi et al., 2014). Segundo Welker et al. (2010), os produtos cárneos são os alimentos mais frequentemente incriminados em surtos (36%), sendo a carne de frango a segunda principal fonte (30%). Hoffmann et al. (2017) estimam que os produtos do frango são responsáveis por 20% das salmoneloses e por mais de 40% das campilobacterioses, ambas de origem alimentar.

Diante do exposto, o Brasil tem de sempre direcionar esforços quanto ao fornecimento de produtos com padrão de qualidade estável e seguro, tendo como

objetivo a segurança do consumidor e a manutenção no mercado (Oliveira et al., 2012). Por conseguinte, foi instituído o Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) por meio da Portaria nº 46 de 1998 e o Programa Nacional de Controle de Patógenos (PNCP), cuja aplicação específica na cadeia produtiva de frangos ocorre por meio da Instrução Normativa nº 20 de 2016 que estabelece o controle e monitoramento de *Salmonella* spp. em frangos, galinhas e perus de corte e reprodução.

No entanto, a alta velocidade de abate de aves e o grande número de animais sendo processados dificultam esse controle e agravam a problemática da contaminação bacteriana do produto final, não apenas devido à questão da saúde pública, mas também à perecibilidade do alimento (Sales e Porto, 2007). Por conseguinte, o estudo direcionado às diferentes fontes de contaminação das carcaças de frangos tem grande peso nesse cenário, uma vez que Souza et al. (2014), afirmam ser possível a ocorrência de contaminação do próprio ambiente do abatedouro frigorífico, dos trabalhadores que manipulam os produtos e também da contaminação cruzada de aves contaminadas.

Pesquisas realizadas demonstraram a importância da linha de processamento industrial como fonte de contaminação por microrganismos e/ou como a dispersora deles, como demonstrado por Alonso et al. (2014), no qual foram detectadas cepas idênticas de *Escherichia coli* Enteropatogênica nos animais vivos (cloacas) e posteriormente ao longo das etapas de abate. A investigação conduzida por Corry et al. (2002) sobre as fontes de Salmonelas das carcaças de frangos também evidenciou a dispersão de tal bactéria durante o processamento industrial. Ellerbroek et al. (2010), num estudo direcionado à contaminação cruzada por *Campylobacter* spp. durante o abate de frangos na Alemanha, confirmaram que a entrada de um lote positivo resultou

na contaminação do ambiente do frigorífico. Alguns estudos já demonstraram o papel das caixas de transporte como fonte de contaminação de patógenos para carcaças em processamento, como nas pesquisas de Newell et al. (2001) e Heyndrickx et al. (2007).

Outro ponto de grande preocupação tanto para a saúde pública como para a saúde animal é o surgimento de bactérias resistentes aos agentes antimicrobianos (Freitas, et al. 2004; Moraes et al., 2014). O uso desses agentes em animais de produção resulta no aparecimento e disseminação de microrganismos resistentes e estes, por sua vez, passam pela cadeia produtiva até atingirem os consumidores, resultando em infecções difíceis de tratar (Anderson et al., 2003). Uma variedade de alimentos e fontes ambientais abrigam bactérias resistentes a uma ou mais drogas antimicrobianas usadas em medicina humana e veterinária e na produção animal (Rasheed et al., 2014).

Considerando-se a relevância das pesquisas direcionadas às fontes de contaminação bacteriana na linha de processamento industrial de frangos de corte, os poucos estudos realizados no Brasil nas caixas de transporte de aves à indústria e, no que se refere à caracterização microbiológica, a inexistência de dados na região do Distrito Federal e Entorno, este trabalho teve por objetivo realizar a pesquisa de *Salmonella* spp., bem como a caracterização microbiológica das caixas de transporte e determinar o perfil de susceptibilidade aos agentes antimicrobianos das bactérias isoladas oriundas de abatedouros frigoríficos localizados na região do Distrito Federal e Entorno.

II. MATERIAL E MÉTODOS

1. Origem das amostras

As amostras de pisos de caixas de transporte de frangos de corte foram obtidas de dois abatedouros frigoríficos de frangos localizados na região do Distrito Federal e Entorno em quatro dias diferentes de coleta. Um total de 62 amostras de swabs de piso das caixas de transporte de frangos das granjas para os abatedouros foi analisado. Para a obtenção dos mesmos, seguiu-se as técnicas preconizadas por Brasil (1995) e Fuzihara et al. (2010), escolhendo-se de forma aleatória as caixas a serem amostradas posteriormente à etapa de pendura das aves e previamente à etapa de lavagem e desinfecção. Em seguida, as amostras foram transportadas, sob refrigeração, em caixas isotérmicas para o Laboratório de Microbiologia de Alimentos (LAMAL), da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília e analisadas.

A análise estatística empregada neste estudo foi a de um estudo observacional, com a verificação da ocorrência, conforme descrito por Pereira (2016).

2. Metodologia de isolamento microbiológico

A metodologia utilizada nesse estudo para pesquisa de *Salmonella* e para caracterização microbiológica foi a descrita por Baron et al. (1994) e Koneman et al. (2001). As amostras dos swabs foram identificadas e plaqueadas individualmente em ágar base para ágar sangue (Acumedia®) contendo 7% de sangue desfibrinado de carneiro, e estas foram incubadas em estufa bacteriológica (Quimis®) a 37°C por 24

horas. Em seguida, as colônias distintas e isoladas foram plaqueadas separadamente em ágar nutriente (Acumedia®) para a identificação bioquímica.

Para tal fim, foram utilizados os seguintes meios de cultivo e testes bioquímicos, segundo metodologia preconizada por Oliveira (2000) e Koneman et al. (2001): análise pelo método de GRAM, teste de KOH a 3%, provas da catalase e oxidase, teste O/F (oxidação/fermentação), crescimento ou não em ágar Mac Conkey (Acumedia®), TSI ágar (*triple sugar iron*), uréia, fenilalanina, citrato, indol, VM (vermelho de metila), VP (Voges-Proskauer), descarboxilação dos aminoácidos arginina, lisina e ornitina, urease, redução de nitratos e fermentação de açúcares como glicose, lactose, sacarose, manitol, dulcitol, salicina, sorbitol, arabinose, rhamnose, xilose, trealose e maltose. No caso de colônias GRAM positivas pertencentes ao gênero *Staphylococcus* sp., foi utilizado o meio de cultura ágar Baird-Parker (Acumedia®) e o teste da coagulase. A leitura e a interpretação dos resultados das provas bioquímicas foram realizadas de acordo com Oliveira (2000) e Koneman et al. (2001).

3. Realização do teste de susceptibilidade antimicrobiana

O teste de antibiograma foi executado por meio da técnica de disco-difusão de Kirby-Bauer (Bauer et al., 1966) em ágar Mueller-Hinton, conforme recomendações do “Clinical and Laboratory Standards Institute” (CLSI, 2016). Foram utilizadas 19 bases químicas de antimicrobianos: Amoxicilina (10mcg), Ampicilina (10mcg), Ácido Nalidíxico (30mcg), Cefalexina (30mcg), Cefalotina (30mcg), Cefazolina (30mcg), Ceftazidima (30mcg), Ciprofloxacina (5mcg), Cloranfenicol (30mcg), Doxiciclina (30mcg), Enrofloxacina (5mcg), Eritromicina (15mcg), Estreptomicina (10mcg),

Gentamicina (10mcg), Neomicina (30mcg), Sulfonamida (300mcg), Teicoplanina (30mcg), Tetraciclina (30mcg) e Vancomicina (30mcg), todos da marca SENSIFAR®.

Para a realização do teste, as bactérias já previamente isoladas e devidamente identificadas foram inoculadas em caldo BHI (*Brain Heart Infusion* - BD™ Bacto™) e incubadas a 37° C por 1 a 2 horas, a fim de que atingissem o grau de turbidez 0,5 na escala padrão de McFarland (Nefelobac – Probac do Brasil). Em seguida, um *swab* estéril foi introduzido no caldo e plaqueado em ágar Mueller-Hinton (Acumedia®), de maneira que o caldo fosse distribuído uniformemente por toda a placa. No caso específico de cepas de *Streptococcus* sp., o meio recomendado pelo CLSI (2016) e utilizado foi ágar Mueller-Hinton suplementado com 5% de sangue desfibrinado de carneiro. Posteriormente, os discos contendo os antibióticos foram colocados nas placas de 90X15 mm com o auxílio de uma pinça estéril, não se excedendo à quantidade de 5 discos por placa, a fim de manter a distância mínima de 24mm entre eles, que é a recomendação do CLSI (2016). As placas, então, foram invertidas e incubadas aerobiamente a 35° C por 16 a 18 horas. Por último, as zonas de inibição foram medidas e interpretadas segundo os parâmetros do CLSI (2016).

III. RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. Pesquisa de *Salmonella* spp. e isolamento microbiológico das amostras de piso de caixas de transporte

Não foi encontrada nenhuma cepa de *Salmonella* spp. nas 62 amostras de swabs de piso de caixas de transporte de frangos de corte. Já para a caracterização microbiológica, das 62 amostras analisadas no presente estudo, foi encontrado um total de 160 cepas bacterianas, sendo frequente o isolamento de dois ou mais gêneros bacterianos na mesma amostra de caixa. Os microrganismos mais isolados foram *Escherichia coli* (40,62%), seguido por *Staphylococcus* Coagulase Negativo (30%), *Streptococcus* sp. (11,25%), *Proteus mirabilis* (3,75%) e *Morganella morganii* (2,50%). Todos os microrganismos isolados e identificados encontram-se descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Microrganismos isolados e identificados em 62 amostras de *swabs* de piso de caixas de transporte de frangos de corte de abatedouros frigoríficos localizados na região do Distrito Federal e Entorno

Microrganismo identificado	Quantidade de cepas isoladas	% em 160 cepas isoladas
<i>Escherichia coli</i>	65	40,62
<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>	48	30,00
<i>Streptococcus sp.</i>	18	11,25
<i>Proteus mirabilis</i>	6	3,75
<i>Morganella morganii</i>	4	2,50
<i>Hafnia alvei</i>	3	1,87
<i>Bacillus sp.</i>	2	1,25
<i>Citrobacter farmeri</i>	2	1,25
<i>Shigella sonnei</i>	1	0,62
<i>Citrobacter koseri</i>	1	0,62
<i>Micrococcus sp.</i>	1	0,62
<i>Shigella fleneri</i>	1	0,62
<i>Providencia stuartii</i>	1	0,62
<i>Shigella</i> Grupos A, B, C	1	0,62
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	1	0,62
<i>Escherichia fergusonii</i>	1	0,62
<i>Citrobacter diversus</i>	1	0,62
<i>Citrobacter sedlaki</i>	1	0,62
<i>Shigella dysenteriae</i>	1	0,62
<i>Enterobacter agglomerans</i>	1	0,62
Total	160	100

Na pesquisa de *Salmonella* spp. deste estudo, não foi detectado o microrganismo *Salmonella*, sendo este o primeiro trabalho realizado na região. Outros estudos encontraram resultado semelhante no Brasil, apesar de terem sido realizados com diferente tipo de amostra, como o realizado por Guimarães (2006), que não

encontrou essa bactéria em *swabs* de cloaca de 300 frangos de corte adultos da região do Distrito Federal; o trabalho executado por Moreira (2002) também não encontrou *Salmonella* em *swabs* cloacais de 300 pintinhos de 1 dia de idade em granjas da região metropolitana de Fortaleza e o feito por Oliveira (2004) não detectou esse microrganismo em 63 amostras fecais colhidas de granjas também do estado do Ceará.

Diferentemente dos resultados do presente estudo, Santos et al. (2015) pesquisaram *Salmonella* spp. em seis pontos de três abatedouros na região sul do Brasil, sendo um deles as caixas de transporte antes da higienização, e encontraram 5,5% de positividade no geral (os autores não discriminaram o percentual específico das caixas), enquanto Reiter et al. (2007) detectaram a presença em 16,7% das caixas de transporte no sul do país em um total de 30 caixas analisadas. Rocha et al. (2003) encontraram *Salmonella* em 11,1% de caixas de transporte de pintos de 1 dia no estado de Goiás de um total de 50 caixas, Corry et al. (2002) detectaram o microrganismo em duas caixas de transporte de um total de 70 avaliadas no Reino Unido e Rasschaert et al. (2007) detectaram-no em 11% de caixas de transporte oriundas de abatedouros da Bélgica de um total de 24 avaliadas.

Pesquisas com amostras de diferentes fontes também encontraram percentuais baixos de presença para *Salmonella* spp. como a conduzida por Andreatti Filho et al. (2009), em que encontraram 2,73% em *swabs* de arrasto de granjas do estado de São Paulo e por Moraes et al. (2014), na qual detectaram 9,4% de positividade também em *swabs* de arrasto de granjas no estado do Goiás. Pereira et al. (1999) encontraram 2,83% de presença de *Salmonella* em *swabs* de cloaca de frangos de corte do estado do Rio de Janeiro, enquanto que Abdi et al. (2017) detectaram 14,8% de positividade também em *swabs* de cloaca de frangos de corte

no sul da Etiópia. Fels-Klerx et al. (2008) pesquisaram esse microrganismo em amostras fecais e encontraram 5,85% de positividade na Holanda.

A não detecção de *Salmonella* verificada neste estudo pode ser em decorrência do reduzido número de amostras e/ou consequência da implantação dos programas relacionados à qualidade e segurança dos alimentos como Boas Práticas de Fabricação no ano de 1997 (Brasil, 1997), o programa de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle em 1998 (Brasil, 1998) e o Programa de Redução de Patógenos no ano de 2003 (Brasil, 2003), cujo monitoramento e controle sobre este patógeno tornou-se ainda mais rigoroso após a implementação da Instrução Normativa nº 20 (Brasil, 2016). Todos esses programas podem estar contribuindo para a efetiva redução da presença do microrganismo *Salmonella* em indústrias frigoríficas e/ou granjas avícolas, especificamente nas caixas de transporte, pois houve uma clara redução nos percentuais de positividade encontrados nas caixas, desde os 99% e 88,5% detectados por Rigby et al. no ano de 1982 e os 5,5% encontrados por Santos et al. em 2015. Observação similar foi descrito por Salvat et al. (2017) em que mencionam a redução da presença do microrganismo em animais vivos, granjas de criação, carcaças e ambiente de abatedouros frigoríficos localizados na França, devido à implementação de programas nos abatedouros que visam à qualidade do produto e de regulamentos específicos para *Salmonella* desde 1998. No entanto, mais pesquisas devem ser realizadas com um maior número de amostras para se verificar a real presença ou ausência do mesmo na região do Distrito Federal e Entorno.

Na caracterização microbiológica de piso de caixas de transporte de frangos de corte, a *Escherichia coli* foi o microrganismo mais isolado, representando 40,62% do total das cepas isoladas. Isto pode se justificar pelo fato do gênero *Escherichia* integrar a microbiota intestinal de aves e mamíferos (Praxedes et al., 2012) e pela

contaminação fecal presente nas caixas de transporte (Allen et al., 2008; Cisco, 2015; Dianin, 2016). Esse achado tem significado, uma vez que há diversas cepas dessa bactéria que possuem fatores de virulência para enfermidades entéricas e extraintestinais (Kaper et al., 2004), além do fato dela apresentar uma tendência a adquirir resistência a antibióticos (Schwaiger et al., 2012). Os resultados desse estudo são similares ao obtido por Dianin (2016) que detectou a maior contagem de *E. coli* nas caixas de transporte de frangos de corte de abatedouro frigorífico no Paraná.

Poucos estudos no mundo foram realizados com caracterização microbiológica de piso de caixas de transporte de frangos de corte, sendo a maioria dos trabalhos direcionada à pesquisa de *Salmonella* e *Campylobacter* (Slader et al., 2002; Olsen et al., 2003; Ellerbroek et al., 2010; Patriarchi et al., 2011). A grande maioria dos trabalhos que existe na literatura nacional e internacional faz referência ao isolamento de grupos de microrganismos como aeróbicos e enterobactérias, não especificando o microrganismo *E. coli*, como por exemplo Geornaras et al. (1995), que detectaram altas contagens de bactérias aeróbias nas caixas de transporte de um abatedouro na África do Sul, e Hastings et al. (2010), que também encontraram altas contagens de colônias de bactérias aeróbias em dois modelos distintos de caixas de transporte de uma indústria no Reino Unido.

A maioria de isolados de *E.coli* na produção da carne de frango foi obtida de carcaças relacionadas ao fluxograma de abate das aves (Kumar et al., 2014; Mohammed et al., 2015) e aponta a *E. coli* como microrganismo presente nas diversas seções da indústria. Pacheco (2013) detectou *E. coli* em carcaças de três pontos da linha de abate no Rio Grande do Sul. Buhr et al. (2000) detectaram altas contagens desse microrganismo em carcaças coletadas previamente à depenagem em abatedouro nos Estados Unidos e Svobodová et al. (2012) encontraram o mesmo

resultado após a depenadeira em frigorífico na República Tcheca, corroborando com os resultados obtidos neste trabalho de alto nível de contaminação nas primeiras seções das etapas do processamento.

Apesar desse estudo ter sido o primeiro relato de isolamento de *E. coli* em caixas de transporte de frangos na região Centro-Oeste, as outras pesquisas realizadas em abatedouros frigoríficos de aves no Brasil e no mundo confirmam a presença desse microrganismo como principal contaminante na indústria frigorífica de carnes de frangos (Buhr et al., 2000; Pacheco, 2013; Kumar et al., 2014; Mohammed et al., 2015; Dianin, 2016). Portanto os resultados obtidos neste estudo permitem sugerir esforços às Boas Práticas de Fabricação e aos procedimentos de limpeza e desinfecção na área de descarregamento e pendura, a fim de minimizar a disseminação do microrganismo na indústria.

O microrganismo *Staphylococcus* sp. coagulase negativa foi o segundo mais isolado nesse estudo, representando 30% de todas as cepas isoladas, sendo estes resultados similares aos observados por Olivier et al. (1996) que encontraram o microrganismo *Staphylococcus* como predominante das bactérias Gram positivas em carcaças de abatedouro da África do Sul. Os resultados deste estudo também são similares aos observados por Liang et al. (2013), que apontaram *Staphylococcus* como um dos gêneros bacterianos dominantes em ar ambiente da área de espera das aves para abate de um frigorífico na China, e por Paba et al. (2014), que evidenciaram o *Staphylococcus* sp. coagulase negativa como uma das bactérias mais predominantes em ar ambiente das diferentes seções de dois abatedouros de frangos na Itália. Trabalho feito por Dhanarani et al. (2009) com amostras de cama de aviários da Índia também encontrou *Staphylococcus* sp. como microrganismo predominantemente presente nas amostras.

Apesar de ambos os trabalhos anteriores não terem detectado o microrganismo em piso de caixa de transporte de frangos de corte, eles corroboram com os resultados do presente estudo, uma vez que descreveram a presença do microrganismo no ambiente da indústria. Não existem trabalhos que realizaram o isolamento de *Staphylococcus* sp. coagulase negativa em caixas de transporte de frangos de corte no Brasil, sendo este o primeiro relato da presença do mesmo. Apesar de não ser o coagulase positiva, a importância do mesmo se deve à possibilidade de aquisição e transferência de genes de resistência antimicrobiana a outros microrganismos (Morgenstern et al., 2016) e à associação a infecções oportunistas (Boamah et al., 2017).

O terceiro microrganismo mais isolado na presente pesquisa foi *Streptococcus* sp., representando 11,25% do total de bactérias isoladas. Não há pesquisas na literatura nacional e internacional que tenham detectado o microrganismo em caixas de transporte de frangos de corte até o momento, todavia estudos realizados com diferentes fontes de amostras da indústria também o encontraram, como o realizado por Voidarou et al. (2007) que detectaram a predominância desse gênero na água do chiller de três abatedouros da Grécia, e Liang et al. (2013) que identificaram *Streptococcus* sp. como um dos contaminantes de ar ambiente da área de espera dos frangos para abate de um frigorífico na China.

A presença do microrganismo *Streptococcus* é relevante para a saúde pública e animal, já que estudos têm relacionado algumas espécies ou grupos de *Streptococcus* a doenças em animais e seres humanos (Supartika et al., 2007; Sekizaki et al., 2008; Zbinden et al., 2015), inclusive a manipuladores de frigoríficos de frangos (Barnham & Neilson, 1987).

Neste estudo foram identificados em menor quantidade *Proteus mirabilis*, *Morganella morganii*, *Hafnia alvei*, *Citrobacter* sp., *Shigella* sp., *Providencia stuartii*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Escherichia fergusonii* e *Enterobacter agglomerans*. Não há pesquisas realizadas em caixas de transporte identificando-os em nível de gênero e espécie, sendo este o primeiro estudo a fazê-lo na região do Distrito Federal e Entorno, bem como na região Centro-Oeste. A importância desses microrganismos se refere às mesmas pertencerem ao trato intestinal do homem e de outros animais (Cardoso et al., 2005), sendo consideradas como causadoras de surtos de infecções intestinais em humanos, além de serem incriminadas no surgimento e propagação, quando presentes, de resistência aos agentes antimicrobianos (Praxedes et al., 2013). Outro ponto preocupante é que as espécies dos gêneros *Enterobacter* e *Citrobacter* podem permanecer em ambientes não fecais por longos períodos e se multiplicarem (Cardoso et al., 2005).

De maneira similar aos resultados encontrados neste estudo, Dianin (2016) também encontrou enterobactérias em caixas de transporte de frangos em abatedouro do Paraná. A presença desses microrganismos também foi detectada nas etapas iniciais da linha de processamento em carcaças de frangos de corte em abatedouros na Bahia (Almeida e Silva, 1992). Oliveira (2004) também isolou enterobactérias em amostras fecais e de carcaças de frangos de indústria no Ceará e encontrou os gêneros *Proteus* sp., *Enterobacter* sp., *Citrobacter* sp. e *Shigella* sp. Fora do Brasil, Lillard (1990) verificou altas contagens de colônias desse grupo em todos os seis pontos avaliados de abatedouros nos Estados Unidos; Schwaiger et al. (2012) encontraram os gêneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella* como os coliformes mais frequentemente isolados de amostras de cortes de frango de abatedouros da Baviera. Em frigoríficos da Grécia, Voidarou et al. (2007) detectaram *Proteus mirabilis*, *Morganella morganii* e *Hafnia alvei* em amostras de água do chiller.

Nesse estudo foi detectada *Shigella* sp., o que foi similar à pesquisa realizada por Oakley et al. (2013) que encontrou *Shigella* em amostras de cama de aviários nos Estados Unidos. Esse microrganismo apresenta importância em saúde pública, haja vista a possibilidade de produção da toxina de Shiga (Melton-Celsa, 2014), sendo comumente incriminado em afecções nos seres humanos. Todavia também já foi relatado como causador de doenças em frangos, surgindo a possibilidade de infecção cruzada com humanos (Shi et al., 2014).

Não há estudos de caracterização microbiológica em caixas de transporte de frangos que tenham encontrado *Bacillus* sp. e *Micrococcus* sp no Brasil até o presente momento. Contudo algumas pesquisas em linha de processamento industrial os identificaram, tais como Liang et al. (2013), que detectaram *Micrococcus* sp. e *Bacillus* sp. como dois dos gêneros mais predominantes no ar ambiente da área de espera das aves para abate de um frigorífico na China, e Geornaras et al. (1998), que detectaram *Micrococcus* sp. como o isolado com maior contagem em carcaças pré e pós escalda coletadas em abatedouro frigorífico na África do Sul.

De uma forma geral, os resultados encontrados na presente pesquisa são pioneiros em relação à caracterização microbiológica de piso de caixas de transporte de frangos de corte na região do Distrito Federal e Entorno. Entretanto, os microrganismos encontrados já foram amplamente detectados em outros locais da linha de processamento ou em carcaças/cortes de frangos, o que corrobora com os achados desse estudo e reforça a provável importância deles como contaminantes da planta industrial, possibilidade de causar infecções/toxinfecções alimentares no homem e/ou disseminadores de resistência antimicrobiana.

2. Perfil de resistência aos antimicrobianos dos microrganismos isolados de caixas de transporte de frangos de corte da região do Distrito Federal e Entorno

Do total das 160 cepas isoladas e identificadas oriundas das 62 amostras de *swabs* de piso de caixas de transporte de frangos de corte, 65 cepas foram submetidas ao teste de susceptibilidade antimicrobiana, no qual foram testadas 19 bases químicas distintas de antimicrobianos. Os resultados encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2. Teste de susceptibilidade antimicrobiana realizado em 65 cepas de microrganismos isolados de caixas de transporte de frangos de corte na região do Distrito Federal e Entorno

Base	<i>E. coli</i>			<i>Staphylococcus</i>			<i>Streptococcus</i>			<i>Proteus mirabilis</i>			<i>Citrobacter</i>			<i>Morganella</i>			<i>Shigella</i>		
	R(%)	S(%)	I(%)	R(%)	S(%)	I(%)	R(%)	S(%)	I(%)	R(%)	S(%)	I(%)	R(%)	S(%)	I(%)	R(%)	S(%)	I(%)	R(%)	S(%)	I(%)
AMO	77,5	0	22,5	75	0	25	0	0	100	0	0	60	20	20	100	0	0	50	0	0	50
AMP	75	0	25	25	0	75	0	0	100	0	0	60	0	40	100	0	0	50	0	0	50
NAL	50	22,5	27,5	100	0	0	100	0	0	100	0	40	60	0	50	50	0	50	0	0	50
CFE	50	7,5	42,5	0	0	100	0	0	100	0	40	20	40	40	50	0	50	0	0	0	100
CFZ	50	50	0	0	100	0	0	100	100	0	40	0	60	50	0	50	0	50	0	0	100
CFL	70	25	5	0	25	75	0	0	100	0	60	40	0	100	0	0	0	50	0	0	50
CAZ	17,5	22,5	60	0	50	50	0	100	0	100	0	40	60	50	0	50	0	50	0	0	100
CIP	22,5	12,5	65	0	25	75	0	0	100	100	0	0	100	0	0	100	0	100	0	0	100
DOX	45	12,5	42,5	50	0	50	0	0	100	100	0	20	0	80	50	0	50	100	0	0	0
TET	70	2,5	27,5	50	0	50	0	0	100	100	0	40	0	60	50	0	50	100	0	0	0
CLO	20	12,5	67,5	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	100	50	0	50	25	0	0	75
ERI	62,5	35	2,5	100	0	0	0	0	100	100	0	80	20	0	50	50	0	75	25	0	0
ENO	32,5	37,5	30	25	0	75	100	0	0	0	0	40	60	0	50	0	50	0	75	25	0
EST	77,5	15	7,5	0	0	100	100	0	0	100	0	40	0	60	100	0	0	100	0	0	0
GEN	42,5	5	52,5	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	100	50	0	50	50	0	0	50
NEO	32,5	17,5	50	0	0	100	0	0	100	0	40	20	40	0	50	25	0	75	0	0	0
VAN	90	7,5	2,5	25	25	50	0	0	100	100	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	0
SUL	82,5	0	17,5	50	0	50	100	0	0	100	0	40	0	60	100	0	0	50	0	0	50
TEC	100	0	0	0	0	100	0	0	100	100	0	100	0	0	100	0	0	75	25	0	0

AMO: amoxicilina; AMP: ampicilina; NAL: ácido nalidíxico; CFE:cefalexina; CFZ:cefazolina; CFL:cefalotina; CAZ:cefazidima; CIP:ciprofloxacina; DOX:doxiciclina; TET:tetraciclina; CLO:cloranfenicol; ERI:eritromicina; ENO:enrofloxacin; EST:estreptomicina; GEN:gentamicina; NEO:neomicina; VAN:vancomicina; SUL:sulfonamida; TEC:teicoplanina; R:resistente; I:intermediário; S:sensível

Continuação da Tabela 2. Teste de susceptibilidade antimicrobiana realizado em 65 cepas de microrganismos isolados de caixas de transporte de frangos de corte na região do Distrito Federal e Entorno

Base	<i>Hafnia alvei</i>			<i>Bacillus</i>			<i>Micrococcus</i>			<i>Providencia</i>			<i>Yersinia</i>			<i>E. fergusonii</i>			<i>Enterobacter</i>			
	R(%)	I(%)	S(%)	R(%)	I(%)	S(%)	R(%)	I(%)	S(%)	R(%)	I(%)	S(%)	R(%)	I(%)	S(%)	R(%)	I(%)	S(%)	R(%)	I(%)	S(%)	
AMO	100	0	0	50	0	50	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	100	0	0	0
AMP	100	0	0	50	0	50	100	0	0	0	0	100	0	0	100	0	0	100	100	0	0	0
NAL	100	0	0	50	0	50	100	0	0	100	0	0	0	100	0	0	100	0	100	0	0	0
CFE	0	10	0	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	100	0	0	100	0	0	0	0	100
CFZ	0	0	100	50	0	50	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	0	100
CFL	100	0	0	50	0	50	0	0	100	0	100	0	0	0	100	0	0	100	0	0	0	100
CAZ	0	10	0	50	0	50	100	0	0	0	0	100	0	100	0	0	0	100	0	0	0	100
CIP	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	0	100
DOX	100	0	0	0	0	100	100	0	0	0	0	100	0	100	0	0	0	100	0	0	0	100
TET	100	0	0	0	0	100	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	0	0	0	100
CLO	100	0	0	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	0	100
ERI	100	0	0	0	0	100	100	0	0	0	100	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100
ENO	0	10	0	0	50	50	0	0	100	0	100	0	0	0	100	100	0	0	100	0	0	100
EST	100	0	0	0	0	100	0	0	100	100	0	0	0	0	100	0	100	0	100	0	0	100
GEN	100	0	0	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	0	100
NEO	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	0	100
VAN	100	0	0	0	0	100	0	0	100	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100
SUL	100	0	0	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	0	100
TEC	100	0	0	0	0	100	0	0	100	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100

AMO: amoxicilina; AMP: ampicilina; NAL: ácido nalidíxico; CFE: cefalexina; CFZ: cefazolina; CFL: cefalotina; CAZ: ceftazidima; CIP: ciprofloxacina; DOX: doxiciclina; TET: tetraciclina; CLO: cloranfenicol; ERI: eritromicina; ENO: enrofloxacin; EST: estreptomicina; GEN: gentamicina; NEO: neomicina; VAN: vancomicina; SUL: sulfonamida; TEC: teicoplanina; R: resistente; I: intermediário; S: sensível

Todos os microrganismos isolados nessa pesquisa mostraram um fenótipo de resistência múltipla a antimicrobianos, uma vez que foi observada resistência a pelo menos 4 bases diferentes concomitantemente. De todas as bactérias isoladas e testadas quanto à susceptibilidade antimicrobiana, a *Escherichia coli* foi a única a apresentar resistência a todas as 19 bases químicas testadas (Tabela 2). Foi observada resistência a 16/19 antimicrobianos nas 2 cepas de *Morganella* sp. submetidas ao teste, resistência a 14/19 bases nas 5 cepas de *Citrobacter* sp. e resistência a 13/19 drogas testadas nas 4 cepas de *Shigella* sp. e 1 de *Hafnia alvei*, o que demonstra o perfil resistente dessas enterobactérias. Em relação aos demais microrganismos isolados nessa pesquisa pertencentes à família *Enterobacteriaceae*, também foi encontrado um fenótipo de resistência nas cepas de *Proteus mirabilis* e *Enterobacter* sp. (1 cepa de cada), nas quais foi observada resistência a 9/19 bases químicas, e nas cepas de *Providencia* sp. e *Yersinia* sp. (1 cepa de cada), em que foi observada resistência a 5/19 drogas antimicrobianas. As 4 cepas de *Staphylococcus* sp. apresentaram resistência a 9/19 bases testadas, enquanto que as 2 cepas de *Bacillus* sp. e 1 cepa de *Micrococcus* sp. foram resistentes a 6/19 antimicrobianos e 1 cepa de *Streptococcus* sp. foi resistente a apenas 4 das 19 drogas testadas.

No presente trabalho, a *E. coli* apresentou resistência a todas as bases químicas antimicrobianas testadas, tais como cloranfenicol (20%), gentamicina (42,5%), tetraciclina (70%), ampicilina (75%), ácido nalidíxico (50%), enrofloxacina (32,5%), ciprofloxacina (22,5%), estreptomina (77,5%) e neomicina (32,5%). Com resultados semelhantes aos achados dessa pesquisa, Corrêa (2013) investigou a resistência de isolados de *E. coli* de camas de frango, penas e vísceras comestíveis no estado de Goiás e também observou resistência a todas as drogas antimicrobianas testadas, detectando um percentual de resistência bem próximo para cloranfenicol (19%), gentamicina (62,9%) e tetraciclina (69,1%). Korb (2014) avaliou o fenótipo de

resistência antimicrobiana de cepas de *E. coli* oriundas de 60 amostras de fezes de frangos de criação intensiva no Paraná e encontrou valores próximos nos casos de ampicilina (100%), ácido nalidíxico (62%), enrofloxacina (23%), ciprofloxacina (23%) e tetraciclina (83%). Artencio (2007), numa pesquisa realizada com 34 amostras de camas de aviários do Rio Grande Do Sul, encontrou fenótipo de resistência similar nos casos de ciprofloxacina (26,5%) e enrofloxacina (20,6%).

Pesquisas realizadas fora do Brasil também obtiveram resultados parecidos com os resultados obtidos neste estudo como os de Bergeron et al. (2012), que analisaram 349 isolados de *E. coli* de amostras de frangos de abatedouros no Canadá e detectaram moderada a alta resistência frente aos antimicrobianos ampicilina, estreptomicina, gentamicina e tetraciclina. Bywater et al. (2004) realizaram uma pesquisa quanto à resistência antimicrobiana em animais produtores de alimentos em países da União Europeia e encontraram valores próximos ao desse estudo no caso das amostras de frangos da França para as bases ampicilina (51,3%), cloranfenicol (16,6%), estreptomicina (46,7%) e tetraciclina (85,4%). Num trabalho feito na Bélgica, Persoons et al. (2010) avaliaram 2076 isolados de *E. coli* oriundos de carcaças após evisceração e de granjas e abatedouros e encontraram alto nível de resistência à ampicilina, ácido nalidíxico, tetraciclina e estreptomicina, assim como nessa pesquisa; eles também encontraram perfil de resistência similar (resistência moderada) nos casos de enrofloxacina, cloranfenicol e neomicina. Kim et al. (2005) também encontraram alta resistência à ampicilina, estreptomicina e tetraciclina em isolados de *E. coli* de produtos de mercado e de criações de perus, gado e frango em Oklahoma.

Por outro lado, alguns trabalhos obtiveram resultados diferentes aos encontrados nessa pesquisa como o realizado por Lebert et al. (2018), em que detectaram percentuais de resistência bastante inferiores em isolados de *E. coli* de

carcaças de frango oriundas de pequenos criadores no Canadá, encontrando baixa resistência à ampicilina (14%), gentamicina (9%), cloranfenicol (1%), ciprofloxacina (0,068%), ácido nalidíxico (2%), estreptomicina (20,3%) e tetraciclina (36,6%). Schwaiger et al. (2012), em estudo sobre a resistência dessa bactéria em carne de frango de abatedouros na Alemanha, também detectaram percentuais de resistência bem inferiores para gentamicina (1,6%), neomicina (4,9%), estreptomicina (21,8%), cloranfenicol (2,8%), ciprofloxacina (4,5%) e enrofloxacina (7,8%). Outros autores obtiveram dados de resistência bastante superiores aos detectados nessa pesquisa como Oguttu et al. (2008), que, ao avaliar 168 isolados de *E. coli* de carcaças de frango em abatedouro da África do Sul, observaram uma resistência de 98,2% para doxiciclina, 75,6% para enrofloxacina e 90,5% para ácido nalidíxico. Wu et al. (2015) analisaram 373 isolados de *E. coli* de carcaças de frangos de um abatedouro na China e detectaram 92,23% de resistência para doxiciclina e 64,61% para ciprofloxacina, o que também foi bastante superior aos achados do presente trabalho.

O cloranfenicol foi uma das bases químicas utilizadas no teste de susceptibilidade antimicrobiana que apresentou menor quantidade de cepas de *E. coli* resistentes (apenas 20%). Este resultado pode ser justificado pelo fato desse princípio ativo ter sido proibido para uso veterinário e para emprego na alimentação de todos os animais e insetos no ano de 2003 (Brasil, 2003). A droga eritromicina também teve seu uso na alimentação animal como melhorador de desempenho proibido no ano de 2012 pelo MAPA (Brasil, 2012), contudo ela ainda apresentou 62,5% de cepas de *E. coli* resistentes, o que provavelmente se justifica pela recente normativa proibindo e devido ao uso com outras finalidades ainda ser permitida. O mesmo ocorre com as bases químicas tetraciclina e sulfonamida que, apesar de terem apresentado elevado percentual de cepas de *E. coli* resistentes (70% e 82,5% respectivamente), foram

proibidas de serem utilizadas como aditivos zootécnicos melhoradores de desempenho em 2009 (Brasil, 2009).

Praxedes et al. (2013), num estudo feito com *swabs* fecais de frangos submetidos à dieta com nitrofuranos no estado do Rio de Janeiro, encontraram cepas de *Morganella* sp., *Proteus* sp. e *Citrobacter* sp. com sensibilidade a um grande número de antimicrobianos, o que diverge dos dados da presente pesquisa, já que esses microrganismos apresentaram resistência a pelo menos metade das drogas testadas. O autor refere que *Morganella* sp. foi resistente apenas à tetraciclina e sulfazotrim, semelhante à resistência à tetraciclina também detectada, que *Citrobacter* sp. foi resistente apenas ao cloranfenicol (diferente dos 100% de sensibilidade) e que *Proteus* sp. foi resistente apenas à tetraciclina e aztreonam (100% de resistência à tetraciclina nesta pesquisa).

Kim et al. (2005), num trabalho feito com amostras de produtos de mercado e de criações de animais em Oklahoma, encontraram resistência múltipla de *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis* e *Providencia* sp., destacando a resistência frente à ampicilina, estreptomicina e tetraciclina, o que foi semelhante aos dados encontrados neste trabalho (100%, 100% e 50% respectivamente). Schwaiger et al. (2012) detectaram resistência de *Citrobacter* sp. isolado de amostras de cortes de frango de abatedouros da Baviera apenas para estreptomicina e doxiciclina (semelhante aos resultados desse estudo), contudo foi detectada sensibilidade às drogas ampicilina, neomicina e estreptomicina, o que divergiu dos dados encontrados.

Pesquisa feita por Freitas et al. (2004) com cepas de *Staphylococcus* sp. isoladas de carcaças de frango comercializadas em Recife obteve resultados semelhantes ao da presente pesquisa no que se refere às bases químicas vancomicina, enrofloxacina, amoxicilina e eritromicina, pois, em ambos os trabalhos,

as cepas de *Staphylococcus* sp. apresentaram-se resistentes a tais drogas. Contudo, no que diz respeito aos agentes antimicrobianos cloranfenicol, gentamicina, cefalexina, neomicina e ciprofloxacina, ambos os estudos divergem, uma vez que os achados da presente pesquisa foram de 100% de sensibilidade, enquanto que os de Freitas et al. (2004) foram de resistência. Fato parecido ocorreu com estudo feito com amostras de carne de frango coletadas de supermercados no Cairo, segundo Osman et al. (2016), no qual cepas de *Staphylococcus* sp. coagulase negativa foram resistentes à eritromicina, tetraciclina e vancomicina (similar aos achados dessa pesquisa), contudo algumas também apresentaram resistência ao cloranfenicol, ciprofloxacina e gentamicina, o que divergiu do presente trabalho (0% de resistência).

Os resultados de fenótipo de resistência antimicrobiana de microrganismos isolados de caixas de transporte de frangos de corte da região do Distrito Federal e Entorno evidenciam a importância deles como potenciais disseminadores de genes de resistência a antimicrobianos, haja vista o fenótipo de resistência múltipla observado em todos. Este fato tem grande relevância à saúde pública, em virtude do surgimento e aumento cada vez mais frequente de bactérias multirresistentes.

IV. CONCLUSÕES

Não foi detectada a presença de *Salmonella* spp. nas amostras de caixas de transporte analisadas. Os resultados de caracterização microbiológica e teste de susceptibilidade permitem inferir que há uma diversidade de microrganismos presentes no piso das caixas de transporte de frangos de corte com fenótipo de resistência múltipla, os quais podem terminar por contaminar as carcaças e a planta industrial, disseminar resistência antimicrobiana e podem causar infecções/toxinfecções alimentares. Mais pesquisas devem ser realizadas com o intuito de investigar os mecanismos genéticos que deram origem às resistências observadas.

V. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDI, R. D. et al. Determination of the sources and antimicrobial resistance patterns of *Salmonella* isolated from the poultry industry in Southern Ethiopia. **BMC Infectious Diseases**, v. 17, p. 352-363, 2017.

ABPA. 2017 Relatório Anual. Disponível em: http://abpa-br.com.br/storage/files/3678c_final_abpa_relatorio_anual_2016_portugues_web_red_uzido.pdf>. Acesso em 17 abr. 2018.

ALLEN, V. et al. Effect of ultrasonic treatment during cleaning on the microbiological condition of poultry transport crates. **British Poultry Science**, v. 49, n. 4, p. 423-428, jul. 2008.

ALMEIDA, P. F. De; SILVA, E. N. Da. Estudo sobre o controle e disseminação bacteriana em carcaças de frangos de abatedouros industriais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 44, n. 2, p. 105-120, 1992.

ALONSO, M. Z. et al. Caracterización de cepas de *Escherichia coli* enteropatogénico (EPEC) aisladas durante el proceso de faena de pollos. **Revista argentina de microbiología**, v. 46, n. 2, p. 122-125, 2014.

ANDERSON, A. D. et al. Public Health Consequences of Use of Antimicrobial Agents in Food Animals in the United States. **Microbial Drug Resistance**, v. 9, n. 4, p. 373-379, jan./jun. 2003.

ANDREATTI FILHO, R. L. et al. Pesquisa de *Salmonella* spp. em suabes de arrasto provenientes de granjas avícolas. **Veterinária e Zootecnia**, v. 16, n. 1, p. 190-194, mar. 2009.

ARTENCIO, J. O. Perfil de resistência a antimicrobianos de amostras de *Escherichia coli* de origem aviária isoladas no estado do Rio Grande do Sul. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2007.

BARNHAM, M.; Neilson, D. J. Group L beta-haemolytic streptococcal infection in meat handlers: another streptococcal zoonosis? **Epidemiology and Infection**, v. 99, n. 2, p. 257-264, out. 1987.

BARON, E.J.O.; PETERSON, L.R.; FINEGOLD, S.M. Bailey e Scott's. **Diagnostic Microbiology**. 9a ed. Mosby, 1994.

BAUER, A. W.; KIRBY, M. M. W.; SHERRIS, J. C.; TURCK, M. Antibioticsusceptibilitytestingby a standardized single disk method.**American Journal of Clinical Pathology**, Chicago, v. 45, n. 4, p. 493-496, 1966.

BERGERON, C. R. et al. Chicken as Reservoir for Extraintestinal Pathogenic Escherichia coli in Humans, Canada. **Emerging Infectious Diseases**, v. 18, n. 3, p. 415-421, mar. 2012.

BOAMAH, V. E. et al. Prevalence and antibiotic resistance of coagulase-negative Staphylococci isolated from poultry farms in three regions of Ghana. **Infection and Drug Resistance**, v. 10, p. 175-183, jun. 2017.

BRASIL 1995. Portaria SDA nº 126, de 03 de novembro de 1995. Aprova as normas de credenciamento e monitoramento de Laboratórios de Diagnóstico das Salmoneloses Aviárias (S. Enteritidis, S. Gallinarum, S. Pullorum, S. Typhimurium). Diário Oficial da União. Brasília, n.212, p.17694-17698, de 6 de novembro, Seção I.

BRASIL 1997. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Portaria no 368, de 04 de setembro de 1997. Aprova o Regulamento Técnico sobre as condições higiênico-sanitárias e de boas práticas de fabricação para estabelecimentos elaboradores/industrializadores de alimentos. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=3015>. Acesso em 21 maio. 2018.

BRASIL 1998. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Portaria no 46, de 10 de fevereiro de 1998. Institui o Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle - APPCC. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=1139>. Acesso em 21 maio. 2018.

BRASIL 2003. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa no 70, de 06 de outubro de 2003. Institui o Programa de Redução de Patógenos – Monitoramento Microbiológico e Controle de Salmonella sp. em Carcaças de Frangos e Perus. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=3136>. Acesso em 21 maio. 2018.

BRASIL 2009. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 26, de 09 de julho de 2009. Regulamento Técnico para a Fabricação, o Controle de Qualidade, a Comercialização e o Emprego de Produtos Antimicrobianos de Uso Veterinário, 2009. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/arquivos-alimentacao-animal/legislacao/instrucao-normativa-no-26-de-9-de-julho-de-2009.pdf> Acesso em 10 jun. 2018.

BRASIL 2012. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa nº 14, de 17 de maio de 2012. Proibir a importação, fabricação e o uso das substâncias antimicrobianas espiramicina e eritromicina com finalidade de aditivo zootécnico melhorador de desempenho na alimentação animal. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/arquivos-alimentacao-animal/legislacao/instrucao-normativa-no-14-de-17-de-maio-de-2012.pdf> Acesso em 12 jun. 2018.

BRASIL 2016. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa nº 20, de 21 de outubro de 2016. Ficam estabelecidos o controle e o monitoramento de *Salmonella* spp. nos estabelecimentos avícolas comerciais de frangos e perus de corte e nos estabelecimentos de abate de frangos, galinhas, perus de corte e reprodução. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/inspecao/produtos-animal/controle-de-patogenos/arquivos-controle-de-patogenos/SalmonellaIN202016Salmonella.pdf>. Acesso em 21 maio. 2018.

BRASIL 2017. GOVERNO DO ESTADO DE MINAS GERAIS/SECRETARIA DE ESTADO DE AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO/SUBSECRETARIA DO AGRONEGÓCIO, 2017. Perfil do Agronegócio Mundial. Disponível em: <http://www.agricultura.mg.gov.br/images/Arq_Relatorios/Perfil/Mundial/perfil_mundial_out_2017.pdf>. Acesso em 13 abr. 2018.

BUHR, R. J. et al. Influence of Flooring Type During Transport and Holding on Bacteria Recovery from Broiler Carcass Rinses Before and After Defeathering. **Poultry Science**, v. 79, n. 3, p. 436-441, 2000.

BYWATER, R. et al. A European survey of antimicrobial susceptibility among zoonotic and commensal bacteria isolated from food-producing animals. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 54, n. 4, p. 744-754, jan. 2004.

CARDOSO, A. L. S. P. et al. Pesquisa de *Salmonella* spp., coliformes totais, coliformes fecais, mesófilos, em carcaças e cortes de frango. **Revista Higiene Alimentar**, v. 19, n. 128, p. 144-150, 2005.

CISCO, I. C. Detecção de *Campylobacter* spp. em amostras de abatedouros avícolas. Dissertação de mestrado. Universidade de Passo Fundo. 2015.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 26th ed. CLSI supplement M100S. Wayne, PA: **Clinical and Laboratory Standards Institute**, 2016.

CORRÊA, F. A. F. Pesquisa de bactérias com determinação do perfil de sensibilidade em vísceras comestíveis de frango de corte, penas e camas de aviários. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Goiás. 2013.

CORRY, J. et al. Sources of salmonella on broiler carcasses during transportation and processing: modes of contamination and methods of control. **Journal of Applied Microbiology**, v. 92, p. 424-432, 2002.

DHANARANI, T. S. et al. Study on acquisition of bacterial antibiotic resistance determinants in poultry litter. **Poultry Science**, v. 88, p. 1381-1387, jan. 2009.

DIANIN, K. C. S. Indicadores de higiene e pesquisa de *Salmonella* spp. em linha de abate e processamento de frango de corte. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Paraná. 2016.

ELLERBROEK, L. I.; LIENAU, J.-A.; KLEIN, G.. *Campylobacter* spp. in Broiler Flocks at Farm Level and the Potential for Cross-Contamination During Slaughter. **Zoonoses and public health**, v. 57, n. 7, p. 81-88, dez. 2010.

FAO. OECD-FAO Agricultural Outlook 2015-2024. OECD Publishing, Paris. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/a-i4738e.pdf>>. Acesso em 13 abr. 2018.

FELS-KLERX, H. J. V. D. et al. Prevalence of *Salmonella* in the broiler supply chain in The Netherlands. **Journal of food protection**, v. 71, n. 10, p. 1974-1980, 2008.

FREITAS, M. F. L. et al. Sensibilidade antimicrobiana de cepas de *Staphylococcus* spp. isoladas de carcaças de frango comercializadas em Recife. **Arquivo brasileiro de medicina veterinária e zootecnia**, v. 56, n. 3, p. 405-407, 2004.

FUZHARA, Terumi O.; FERNANDES, Sueli A.; FRANCO, Bernadette D. G. M.. 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, jan. 2010.

GEORNARAS, I. et al. Microbiological survey of a South African poultry processing plant. **Journal of basic microbiology**, v. 35, n. 2, p. 73-82, 1995.

GEORNARAS, IFIGENIA; JESUS, AMELIA E. DE; HOLY, ALEXANDER VON. Bacterial Populations Associated with the Dirty Area of a South African Poultry Abattoir. **Journal of Food Protection**, v. 61, n. 6, p. 700-703, jan. 1998.

GUIMARÃES, H. K. Análise de prevalência de salmonelose em criações não tecnificadas de *Gallus gallus* no Distrito Federal. Dissertação de mestrado. Universidade de Brasília. 2006.

HASTINGS, R. et al. Campylobacter genotypes from poultry transportation crates indicate a source of contamination and transmission. **Journal of Applied Microbiology**, v. 110, p. 266-276, 2010.

HEYNDRICKX, M. et al. Multiple Typing for the Epidemiological Study of the Contamination of Broilers with Salmonella from the Hatchery to the Slaughterhouse. **Journal of Food Protection**, v. 70, n. 2, p. 323-334, 2007.

HOFFMANN, S. et al. Attribution of global foodborne disease to specific foods: Findings from a World Health Organization structured expert elicitation. **PLoS ONE**, v. 12, n. 9, set. 2017.

KAPER, J. B.; NATARO, J. P.; MOBLEY, H. L. T. Pathogenic Escherichia coli. **Nature Reviews – Microbiology**, v.2, p.123-138, 2004.

KIM, S. et al. Multidrug-Resistant Klebsiella pneumoniae Isolated from Farm Environments and Retail Products in Oklahoma. **Journal of Food Protection**, v. 68, n. 10, p. 2022-2029, 2005.

KONEMAN E. W. et al. Diagnóstico microbiológico. 5ª Ed. Médici, 2001. 1465 p.

KORB, A. Resistência aos antimicrobianos de *escherichia coli* isoladas de frangos da região metropolitana de Curitiba e identificação de riscos à saúde humana. Tese de doutorado. Universidade Federal do Paraná. 2014.

KUMAR, Ajay; TANEJA, Neelam; SHARMA, Meera. An Epidemiological and Environmental Study of Shiga Toxin–Producing Escherichia coli in India. **Foodborne pathogens and disease**, v. 11, n. 6, p. 439-446, 2014.

LEBERT, L. et al. Prevalence and antimicrobial resistance among *Escherichia coli* and *Salmonella* in Ontario smallholder chicken flocks. **Zoonoses Public Health**, v. 65, p. 134-141, 2018.

LIANG, R. et al. Culturable Airborne Bacteria in Outdoor Poultry-Slaughtering Facility. **Microbes and environments**, v. 28, n. 2, p. 251-256, 2013.

LILLARD, H. S. The Impact of Commercial Processing Procedures on the Bacterial Contamination and Cross-Contamination of Broiler Carcasses. **Journal of food protection**, v. 53, n. 3, p. 202-204, mar. 1990.

MELTON-CELSA, Angela R. Shiga Toxin (Stx) Classification, Structure, and Function. **Microbiology Spectrum. Author manuscript**, v. 2, n. 2, dez. 2014.

MOHAMMED, H. O. et al. Risk of *Escherichia coli* 0157:H7, Non-0157 Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli*, and *Campylobacter* spp. in Food Animals and Their Products in Qatar. **Journal of Food Protection**, v. 78, n. 10, p. 1812-1818, 2015.

MORAES, D. M. C. et al. Fontes de infecção e perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos de *Salmonella* sp. isoladas no fluxo de produção de frangos de corte. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 81, n. 3, p. 195-201, 2014.

MOREIRA, A. P. O. Pesquisa de *Salmonella* sp. em frangos de corte de um dia de idade da Região Metropolitana de Fortaleza - CE. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual do Ceará. 2002.

MORGENSTERN M, Erichsen C, Hackl S, Mily J, Militz M, Friederichs J, et al. Antibiotic resistance of commensal *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci in an international cohort of surgeons: a prospective point-prevalence study. **PLoS ONE**, v. 11, n. 2: e0148437, 2016.

NEWELL, D. G. et al. Changes in the Carriage of *Campylobacter* Strains by Poultry Carcasses during Processing in Abattoirs. **Applied and environmental microbiology**, v. 67, n. 6, p. 2636-2640, jun. 2001.

OAKLEY B. B. et al. (2013) The Poultry-Associated Microbiome: Network Analysis and Farm-to-Fork Characterizations. **PLoS ONE**, v. 8, n. 2: e57190, 2013.

OGUTTU, J W; VEARY, C M; PICARD, J A. Antimicrobial drug resistance of *Escherichia coli* isolated from poultry abattoir workers at risk and broilers on antimicrobials. **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 79, n. 4, p. 161-166, dez. 2008.

OLIVEIRA, Sérgio J. De. Guia bacteriológico prático: microbiologia veterinária. 2 ed. Canoas: ULBRA, 2000. 240 p.

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

OLIVEIRA, W. F. de. Isolamento e tipificação de *Salmonella* da cadeia produtiva de frango de corte da Região Metropolitana de Fortaleza-CE. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual do Ceará. 2004.

OLIVIER, M. et al. Microbiological status of selected chicken carcasses from a non-automated poultry processing plant. **Journal of basic microbiology**, v. 36, n. 1, p. 41-49, 1996.

OLSEN, J. et al. Cross-contamination with *Salmonella* on a broiler slaughterhouse line demonstrated by use of epidemiological markers. **Journal of applied microbiology**, v. 94, n. 5, p. 826-835, jan. 2003.

OSMAN, K. et al. Prevalence of the Antibiotic Resistance Genes in Coagulase-Positive and Negative-Staphylococcus in Chicken Meat Retailed to Consumers. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, nov. 2016.

PABA, E. et al. Exposure to Airborne Culturable Microorganisms and Endotoxin in Two Italian Poultry Slaughterhouses. **Journal of Occupational and Environmental Hygiene**, v. 11, p. 469-478, jul. 2014.

PACHECO, D. O. Qualidade microbiológica da cadeia de carne de aves da região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas. 2013.

PATRIARCHI, A. et al. Molecular Characterization and Environmental Mapping of *Campylobacter* Isolates in a Subset of Intensive Poultry Flocks in Ireland. **Foodborne pathogens and disease**, v. 8, n. 1, p. 99-108, 2011.

PEREIRA, Gomes, Maurício. Epidemiologia: teoria e prática. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016. 596 p.

PEREIRA, Virgínia Léo De A.; SILVA, Gicélia Maria Da; LEMOS, Mosar. Presença de Salmonella em frangos de corte aparentemente sadios em unidades de criação industrial na região de São José do Vale do Rio Preto - RJ. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 6, n. 3, p. 156-161, set./nov. 1999.

PERSOONS, D. et al. Prevalence and Persistence of Antimicrobial Resistance in Broiler Indicator Bacteria. **Microbial Drug Resistance**, v. 16, n. 1, p. 67-75, 2010.

PRAXEDES, C. I. S. et al. Identificação de *Enterobacteriaceae* da microbiota intestinal de frangos de corte submetidos a dieta com nitrofuranos. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 19, n. 1, p. 46-49, jan./abr. 2012.

PRAXEDES, C. I. S. et al. Sensibilidade de Enterobacteriaceae da microbiota intestinal de frangos de corte submetidos à dieta com nitrofuranos. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 36, n. 1, p. 41-47, 2013.

RASHEED, M. U. et al. Antimicrobial drug resistance in strains of Escherichia coli isolated from food sources. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 56, n. 4, p. 341-346, jul./ago. 2014.

RASSCHAERT, G.; HOUF, K.; ZUTTER, L. De. Impact of the slaughter line contamination on the presence of Salmonella on broiler carcasses. **Journal of Applied Microbiology**, v. 103, p. 333-341, 2007.

REITER, M. G. R. et al. Prevalence of Salmonella in a poultry slaughterhouse. **Journal of Food Protection**, v. 70, n. 7, p. 1723-1725, 2007.

RIGBY, C. E. et al. The relationship of *Salmonella* from infected broiler flocks, transport crates or processing plants to contamination of eviscerated carcasses. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, v. 46, p. 272-278, 1982.

ROCHA, P. et al. Salmonella spp. em forros de caixa de transporte e órgãos de pintos de um dia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 55, n. 6, p. 672-676, 2003.

ROSSI, G. A. M. et al. Zoonoses parasitárias veiculadas por alimentos de origem animal: revisão sobre a situação no Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 81, n. 3, p. 290-298, 2014.

SALES, Ronaldo De Oliveira; PORTO, Ernani. Bacterial dissemination: main pathogens and hygiene in chicken slaughter: a review. **Revista brasileira de higiene e sanidade animal**, v. 01, n. 01, p. 14-36, jan. 2007.

SALVAT, G.; GUYOT, M., PROTINO J. Monitoring Salmonella, Campylobacter, Escherichia coli and Staphylococcus aureus in traditional free-range 'Label Rouge' broiler production: a 23-year survey programme. **Journal of Applied Microbiology**, v. 122, n. 1, p. 248-256, jan. 2017.

SANTOS, L. A. D. et al. 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, mar. 2015.

SCHWAIGER, K. et al. Prevalence of antibiotic-resistant enterobacteriaceae isolated from chicken and pork meat purchased at the slaughterhouse and at retail in Bavaria, Germany. **International Journal of Food Microbiology**, v. 154, p. 206-211, 2012.

SEKIZAKI, T. et al. Endocarditis in Chickens Caused by Subclinical Infection of Streptococcus gallolyticus subsp. gallolyticus. **Avian Diseases**, v. 52, n. 1, p. 183-186, 2008.

SHI, R. et al. Pathogenicity of Shigella in Chickens. **PLOS ONE**, v. 9, n. 6, jun. 2014.

SLADER, J. et al. Impact of Transport Crate Reuse and of Catching and Processing on Campylobacter and Salmonella Contamination of Broiler Chickens. **Applied and environmental microbiology**, v. 68, n. 2, p. 713-719, fev. 2002.

SOUZA, G. C. D. et al. Característica microbiológica da carne de frango. **Agropecuária científica no semiárido**, UFCG, v. 10, n. 2, p. 12-17, abr./jun. 2014.

SUPARTIKA, I. K. E. et al. Necrotizing Granulomatous Hepatitis in Slaughtered Broilers. **Avian Diseases**, v. 51, n. 2, p. 632-638, 2007.

SVOBODOVÁ, I. et al. Microbiological quality of broiler carcasses during slaughter processing. **Acta Veterinaria Brno**, v. 81, p. 37-42, 2012.

VOIDAROU, C. et al. Aerobic and Anaerobic Microbiology of the Immersion Chilling Procedure During Poultry Processing. **Poultry Science**, v. 86, n. 6, p. 1218-1222, 2007.

WELKER, C. A. D. et al. Análise microbiológica dos alimentos envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) ocorridos no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 8, n. 1, p. 44-48, jan./mar. 2010.

WU, H. et al. Identification of integrons and phylogenetic groups of drug-resistant *Escherichia coli* from broiler carcasses in China. **International Journal of Food Microbiology**, v. 211, p. 51-56, out. 2015.

ZBINDEN, A. et al. The novel species *Streptococcus tigurinus* and its association with oral infection. **Virulence**, v. 6, n. 3, p. 177-182, 2015.