

ARTIGO ORIGINAL

Saúde e Segurança Alimentar: Isolamento e análise do perfil de suscetibilidade de bactérias patogênicas de alimentos

Health and Food Safety: Isolation and susceptible profile analysis of pathogenic bacteria of food

Lisiane Martins Volcão,¹ Juliana de Lima Marques,² Eduardo Bernardi,² Gladis Aver Ribeiro²

¹Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS, Brasil.

²Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil

Recebido em: 01/09/2016

Aceito em: 12/09/2016

Disponível online: 04/10/2016

lisivolcao@hotmail.com

DESCRIPTORIOS

Antibióticos;
Enterobacteriaceae;
Resistência bacteriana a múltiplas drogas.

KEYWORDS

Anti-bacterial agents;
Enterobacteriaceae;
Drug Resistance multiple, Bacterial.

RESUMO

Justificativa e Objetivos: Atualmente é crescente a preocupação com as condições higiênicas-sanitárias de produtos alimentícios disponibilizados à população, visto que há uma grande diversidade de patógenos associados com a contaminação de alimentos. Com isso o objetivo do presente estudo foi o isolamento e a análise do perfil de suscetibilidade de *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. e *Staphylococcus* coagulase positiva provenientes de amostras de carne moída obtidas no comércio da cidade de Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil. **Métodos:** Para o isolamento bacteriano foram utilizadas 20 amostras de carne moída originárias do comércio local, sendo realizada a pesquisa para *E. coli*, *Salmonella* spp. e *S. coagulase* positiva. Todas as cepas bacterianas isoladas foram submetidas a análise do perfil de suscetibilidade, onde foram testados dez diferentes antibióticos. **Resultados:** O perfil de suscetibilidade variou entre os isolados, em *Salmonella* spp. observou-se a maior taxa de multirresistência, 58% destas foram resistentes a múltiplos antibióticos, e para os isolados de *E. coli* ocorreu 44,4% de multirresistência. As cepas de *S. coagulase* positiva apresentaram a menor taxa, 25% destas foram multiresistentes, e todos os isolados foram sensíveis a oxacilina. **Conclusões:** A elevada contaminação das amostras de carne moída evidencia a necessidade de boas práticas de higiene e transporte de produtos de origem animal. Quanto aos níveis de resistência e multirresistência aos antibióticos testados, pode-se aferir um possível uso inadequado de antimicrobianos na rotina veterinária.

ABSTRACT

Background and Objectives: Currently, there is growing concern about the hygienic and sanitary conditions of food products available to the population, as there is a great diversity of pathogens associated with food contamination. Thus, the aim of the present study was to isolate and analyze the susceptibility profile of *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. and coagulase-positive *Staphylococcus* from ground beef samples obtained commercially in the city of Pelotas, state of Rio Grande do Sul, Brazil. **Methods:** Twenty samples of ground beef acquired at local commerce were used for bacterial isolation, and the tests for the presence of *E. coli*, *Salmonella* spp. and coagulase-positive *Staphylococcus* were performed. All isolated bacterial strains were submitted to susceptibility profile analysis, in which ten different antibiotics were tested. **Results:** The susceptibility profile varied among the isolates. The highest multiresistance rate was observed among *Salmonella* spp. isolates, as 58% of these were resistant to multiple antibiotics, whereas the *E. coli* isolates showed 44.4% of multiresistance. The strains of coagulase-positive *Staphylococcus* had the lowest rate, as 25% of these were multiresistant, whereas all the isolates were sensitive to oxacillin. **Conclusions:** The high contamination rates of ground beef samples shows the need for good hygiene and transportation practices of animal products. Regarding the levels of resistance and multiresistance to the tested antibiotics, a possible inappropriate use of antimicrobials in veterinary routine can be verified.

R Epidemiol Control Infec, Santa Cruz do Sul, 6(4):197-202, 2016. [ISSN 2238-3360]

Please cite this article in press as: VOLCÃO, Lisiane Martins et al. Saúde e Segurança Alimentar: Isolamento e análise do perfil de suscetibilidade de bactérias patogênicas de alimentos. Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção, Santa Cruz do Sul, v. 6, n. 4, out. 2016. ISSN 2238-3360. Disponível em: <<https://online.unisc.br/seer/index.php/epidemiologia/article/view/8202>>. Acesso em: 10 jan. 2017. doi:<http://dx.doi.org/10.17058/reci.v6i4.8202>.



Exceto onde especificado diferentemente, a matéria publicada neste periódico é licenciada sob forma de uma licença Creative Commons - Atribuição 4.0 Internacional. <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

INTRODUÇÃO

A alimentação dentro dos padrões higiênicos satisfatórios é uma das condições essenciais para a promoção e manutenção da saúde. Com isso, o fator segurança alimentar torna-se cada vez mais uma questão básica nas decisões estratégicas, sendo fundamental para o desenvolvimento de sistemas que mantenham a saúde da população.¹

Segundo a *Food Agriculture Organization* um quinto da população mundial alimenta-se de carne.² O Brasil lidera o ranking dos maiores exportadores de carne bovina no mundo, tendo um aumento considerável nos índices de exportação de carne bovina no ano de 2014 em comparação com o ano anterior.^{3,4} A expectativa é de que até 2020, a produção nacional de carnes chegue a 44,5% deste mercado internacional.³

Com isso, é de fundamental importância a manutenção da qualidade do produto, principalmente produtos cárneos originários da região sul do Brasil, os quais têm apresentado aumento nos níveis de exportação.⁵ A carne bovina possui características as quais favorecem a multiplicação de microrganismos, principalmente a carne moída, pois há uma elevada atividade de água e um aumento da superfície de contato.⁶ Estes provêm do próprio animal ou da contaminação durante o processo de abate e/ou processamento tecnológico.⁷ Quando ocorre a ingestão de água ou alimentos contaminados por microrganismos ou por toxinas por eles produzidas, utiliza-se o termo DTA's, Doenças Transmitidas por Alimentos.⁸ Durante os anos 90 e até hoje, três patógenos bacterianos têm sido o principal alvo de pesquisas e vigilância por parte dos órgãos governamentais, *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. e *Escherichia coli*.⁹ Além destes, outro importante patógeno para a indústria alimentícia, *Staphylococcus* coagulase positiva, é conhecido pelo alto potencial de causar toxinfecções alimentares e pela grande capacidade de mutação para formas mais resistentes frente aos antibióticos utilizados na clínica.^{10,11} Em alguns casos o uso de antimicrobianos é indicado, contudo o uso inapropriado destes em diarreias autolimitantes e virais pode levar a emergência de mecanismos de resistência bacteriana.^{12,13} Neste sentido, o presente estudo teve como objetivo o isolamento e a análise do perfil de suscetibilidade de *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. e *S. coagulase* positiva provenientes de amostras de carne moída obtidas no comércio da cidade de Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil.

MÉTODOS

Coleta das Amostras. As coletas foram realizadas em estabelecimentos comerciais na cidade de Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil. Os açougues e supermercados foram escolhidos aleatoriamente, em um total de 20 amostras. Logo após a coleta, as amostras mantidas em sua embalagem original e sob condições de refrigeração, foram encaminhadas ao laboratório de Bacteriologia do Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Instituto

de Biologia/UFPel para a realização das análises.

Análise Microbiológica. As amostras foram submetidas à pesquisa de *E. coli*, *Salmonella* spp. e *Staphylococcus* coagulase positiva. Para todas as análises, utilizou-se a metodologia baseada em Silva, Junqueira e Silveira, onde se determina pesar 25g da amostra e homogeneizá-la em 225 mL de Caldo Tryptic Soy Broth (TSB), incubando-as a 36°C por 24h.¹⁴ Para a homogeneização de *Salmonella* spp. as amostras foram misturadas a 225 mL de Caldo Lactosado (CL) e incubadas por 24h a 36°C.

Após período de incubação, a identificação de *E. coli* foi realizada a partir de uma alçada do homogeneizado em TSB e repicada, pela técnica de esgotamento, para placas contendo Ágar Eosina Azul de Metileno - Levine (EMB - Levine), as quais foram incubadas a 36°C/24-48h. Após o período de incubação, as colônias características (secas com brilho metálico) foram selecionadas, e repicadas em Ágar Nutriente para conservação até o momento dos testes bioquímicos: Methyl Red e Voges-Proskauer (MRVP), Ágar Citrato de Simmons e Motilidade-Indol-Produção de Ácido Sulfídrico (SIM).

Para a confirmação de *S. coagulase* positiva, foi semeada uma alçada da cultura de TSB em placas de Ágar Baird-Parker (BP) e incubadas a 36°C/48h. Verificou-se a presença de colônias típicas para este micro-organismo (circulares, pretas ou cinzas, lisas, convexas, com bordas perfeitas e rodeadas por uma zona opaca ou halo transparente além da zona opaca). Quando confirmadas as colônias típicas, foi selecionada uma ou mais colônias de cada placa e semeadas em Ágar Nutriente (AN), incubadas a 36°C/24h para realização da coloração de Gram e posterior realização da prova de coagulase. O teste de coagulase foi feito através da transferência de parte do inóculo, pelo método de dispersão, para um tubo contendo 2mL de Caldo Infusão Cérebro Coração (BHI), incubado a 36°C/24h. Após este período, foi retirado 1,8mL deste inóculo e adicionado 0,2 mL de coagu-plasma®. Com movimentos de rotação foi realizada a mistura do meio, sem agitar para não interferir na coagulação. O tubo foi incubado novamente a 36°C, e a cada hora foi verificada a possível formação de coágulo, por um período de 6h.

Após a incubação do homogeneizado de CL, uma alíquota da amostra foi inoculada em tubos contendo meios de enriquecimento seletivo para *Salmonella* sp., Caldo Rapaport (RR) e Tetrionato (TT), sendo incubados a 36°C/24h. Após este período, alçadas de cada tubo inoculado foram semeadas pelo método de esgotamento em placas de Ágar Hektoen-Enteric (HE) e Ágar Xilose Lisina Desoxilato (XLD), e incubadas a 36°C/24h. As colônias suspeitas de *Salmonella* spp. foram submetidas a testes bioquímicos em meios Ágar Lisina Ferro (LIA), Ágar Tríplice de Ferro (TSI) e Caldo de Uréia para obtenção de resultados conclusivos. Na presença de resultados bioquímicos compatíveis para *Salmonella* sp., as colônias foram submetidas à identificação sorológica com soro anti-salmonela polivalente somático (Probac®).

Perfil de Suscetibilidade. Para a análise do perfil

de suscetibilidade dos micro-organismos isolados, foi utilizada a técnica de difusão em disco.¹⁵ Foram utilizados os seguintes antibióticos: Gentamicina (10µg), Sulfazotrim (25µg), Norfloxacina (10µg), Cloranfenicol (30µg), Ampicilina (10µg), Ácido nalidíxico (30µg), Tetraciclina (30µg), Nitrofurantoina (300µg), além de Oxacilina (1µg) e Amicacina (30µg) para as cepas de *S. coagulase* positiva. Após 24h de incubação a 37°C, foi realizada a leitura dos halos de inibição para a definição de sensibilidade ou resistência, obtida de forma comparativa com a tabela padrão descrita pelo protocolo M02-A11 do CLSI.¹⁶

RESULTADOS

Do total de amostras analisadas, 45% (nove) estavam contaminadas por *E. coli*, e 60% (12) por *Salmonella* spp. A presença de *S. coagulase* positiva foi verificada em 60% das amostras (12).

Os perfis de suscetibilidade aos antimicrobianos das 33 cepas bacterianas estão demonstrados na figura 1. Para as cepas de *Salmonella* spp., observou-se resistência frente a nitrofurantoina (58%), sulfazotrim (8%), ácido nalidíxico (33%), ampicilina (91,6%) e a tetraciclina (8%), contudo todos isolados foram sensíveis a cloranfenicol, gentamicina e a norfloxacina. Quanto a *E. coli*, ocorreu resistência a quatro drogas, nitrofurantoina (33%), sulfazotrim (11%), ácido nalidíxico (11%) e ampicilina (55%). Para *S. coagulase* positiva os níveis de resistência foram menores, houve resistência bacteriana somente para ampicilina (58%) e tetraciclina (25%).

O padrão de multirresistência refere-se a cepas bacterianas com resistência a dois ou mais antimicrobianos, na tabela 1 estão expressos o número de cepas múltiplo resistentes (MR) e não múltiplo resistentes (NMR).¹⁷ Do total de isolados de *Salmonella* spp., 58,3% (7) foram multiresistentes aos antibióticos testados, sendo que em uma cepa foi observada resistência a quatro antibióticos (ampicilina, nitrofurantoina, ácido nalidíxico e sulfazotrim). As cepas de *E. coli* apresentaram padrão de multirresistência em 44,4% das amostras e para *S. coagulase* positiva três cepas (25%) apresentaram múltipla resistência, a ampicilina+tetraciclina.

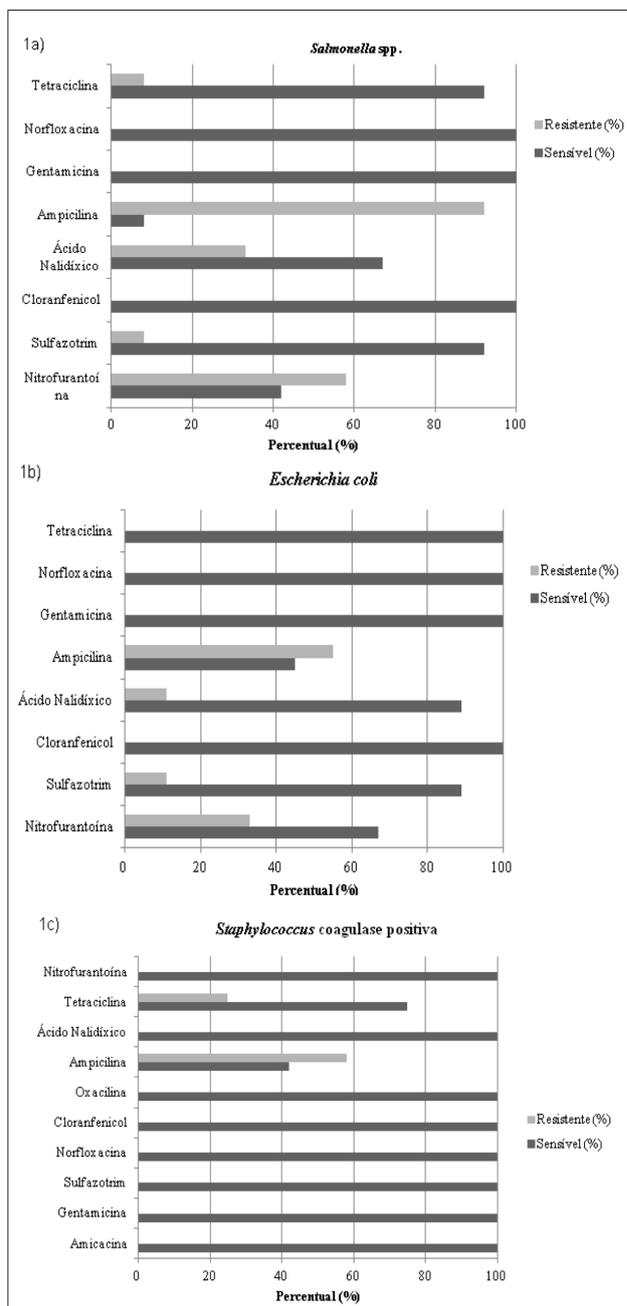


Figura 1. Perfil de suscetibilidade de *Salmonella* spp. (1a), *Escherichia coli* (1b) e *Staphylococcus coagulase* positiva (1c) isoladas de carne moída frente aos antibióticos utilizados.

Tabela 1. Perfil de multirresistência de *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. e *Staphylococcus coagulase* positiva frente os antibióticos testados.

Padrão de Resistência	Número de Estirpes			Classificação
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Staphylococcus coagulase</i> +	
Sensibilidade a todos os antimicrobianos	3	0	5	Sensível
Amp	2	4	4	NMR
Amp, Tet	0	0	3	MR
Amp, Tet, Nit	0	1	0	MR
Amp, Nit, Nal	0	4	0	MR
Amp, Nit, Nal, Sut	0	1	0	MR
Amp, Nit	3	1	0	MR
Nal, Sut	1	0	0	MR
Total	9	12	12	

Amp: ampicilina; Tet: tetraciclina; Nit: nitrofurantoina; Nal: ácido nalidíxico; Sut: sulfazotrim; NMR: não multiresistente; MR: multiresistente.

DISCUSSÃO

Os dados para a contaminação por *E. coli* observados neste estudo são semelhantes aos obtidos por Alcântara et al. onde o índice de contaminação por este microrganismo em um total de 90 amostras chegou a 55,5%.¹⁸ Mesmo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária não dispendo de padrões para a presença de *E. coli* em carne moída *in natura*, sua presença em alimentos, fornece com maior segurança informações sobre as condições higiênicas do produto e é a melhor indicação da eventual presença de enteropatógenos.^{8,19} A provável origem da contaminação destas amostras por este micro-organismo poderia ser reflexo de falhas nas condições higiênicas sanitárias durante a manipulação do produto, pois é comum a presença deste nos tecidos animais ou em ferramentas utilizadas no abate e tratamento relacionado, ou até mesmo durante o processo de corte e moagem.²⁰

Os valores da presença de *Salmonella* spp. em nossa análise foram maiores aos encontrados por Dias et al. e Sousa et al., 4,2% de positividade em 24 amostras e 17% de positividade em 30 amostras, respectivamente.^{21,22} Apesar de ser um produto altamente consumido, algumas características como o processo de moagem pela qual a carne passa, favorece a contaminação por micro-organismos, pois ocorre aumento da superfície de contato, proporcionando a incorporação de resíduos de moagens anteriores.²³ O alto percentual de contaminação por esta bactéria pode ser um indicativo de falhas higiênicas-sanitárias na manipulação e transporte destes cortes, visto que, sorovares de *Salmonella* são muito comuns na natureza e podem ser encontrados no trato intestinal de todas as espécies de animais, domésticos e selvagens, resultando em uma grande variedade de fontes de infecção.²⁴

A contaminação por *Staphylococcus* coagulase positiva nas amostras analisadas pode estar ligada a manipulação inadequada do produto, uma vez que é comum o isolamento deste tipo de bactéria nas mãos e nas fossas nasais dos manipuladores de alimentos.^{25,26} Além desta, a contaminação também pode ocorrer durante a sangria, onde pode ocorrer o transporte de micro-organismos da pele do animal para a carcaça.²⁷ Apesar da legislação brasileira não estabelecer limites para a contagem deste patógeno, valores próximos a 10⁵ Unidades Formadoras de Colônia/g são um indicativo de risco epidemiológico.^{8,28}

Os resultados de suscetibilidade das cepas isoladas em nosso estudo divergem de outra pesquisa realizada, neste caso com amostras de carne suína, onde houve altos níveis de resistência a tetraciclina, cloranfenicol e gentamicina.²⁹ Estes mesmos autores, associam a resistência bacteriana ao tipo de sorovar, onde *Salmonella typhimurium* apresentou maiores taxas de resistência em comparação a outros sorovares identificados. É importante salientar que o uso indiscriminado de quinolonas e fluoroquinolonas na medicina veterinária, como o ácido nalidíxico e a enrofloxacin, podem provocar o fenômeno de resistência cruzada, onde cepas bacterianas adquirem resistência a duas ou mais drogas de uma mesma classe de

antibióticos sem ter entrado em contato com o mesmo.^{30,31} Isto se torna um problema na medida em que é necessário fazer uso desta classe de antibióticos em casos de infecções persistentes por *Salmonella* spp. ou por *Shigella* sp., como em diarreias febris e/ou sanguinolentas.¹²

Ao analisar isolados de diferentes alimentos e provenientes de manipuladores, autores observaram resistência bacteriana a ampicilina e tetraciclina somente nos isolados alimentares.³² Em outro estudo, onde foi analisada a resistência de micro-organismos provenientes de diferentes fontes, a resistência ao ácido nalidíxico em cepas de origem bovina foi três vezes maior do que a resistência observada em *E. coli* originária de humanos.³³ Dados que elucidam a importância da transmissão de cepas resistentes entre diferentes reservatórios.

Assim como no presente estudo, Martins et al. demonstram uma resistência elevada de *S. coagulase* positiva a ampicilina (89%) e tetraciclina (39%).²⁶ Nesta mesma pesquisa, 86,6% das cepas de *S. coagulase* positiva eram sensíveis a oxacilina, enquanto que neste trabalho foi encontrada 100% de sensibilidade a este fármaco. Este é um dado importante, visto que há um aumento considerável nos últimos anos de cepas ORSA (*Staphylococcus* oxacilina-resistente) e MRSA (*Staphylococcus* metilicina-resistente).³⁴

O perfil de multirresistência observado foi relativamente alto em comparação com estudo de Bosilevac et al., onde houve uma taxa de 22,5% de cepas multirresistentes em *Salmonella* spp. isoladas de retalhos de carne bovina e 0,6% de cepas multiresistentes em um total de 4.136 isolados, respectivamente.¹⁷ Tadesse et al. observaram um aumento na frequência de cepas bacterianas multiresistentes de *E. coli* ao longo dos anos, entre 1950-1959 houve um aumento de 7,2% no número de cepas resistentes e entre 2000-2002 esse número foi de 63,6%.³³ O padrão de resistência observado neste e em outros estudos, pode ser explicado pela frequente e comum colonização de indivíduos saudáveis por cepas multirresistentes.³⁵ Apesar de haver dados superiores na literatura a cerca da multirresistência de *S. coagulase* positiva, este fato indica o grande potencial de contaminação pelo patógeno ao longo cadeia alimentar.³⁶ Este processo, designado como contaminação cruzada, ocorre quando o alimento é contaminado por bactérias resistentes ou contendo genes de resistência a antimicrobianos, proveniente dos manipuladores de alimentos ou até mesmo do próprio consumidor.³⁷

É importante salientar que o perfil de resistência de cepas bacterianas encontradas em alimentos pode ser reflexo do tratamento, profilaxia e suplementação animal com substâncias antimicrobianas. Um exemplo disto foi divulgado em um estudo feito na Alemanha, onde houve aumento de cepas de *Salmonella* spp. resistentes ao ácido nalidíxico após o licenciamento da enrofloxina.³⁸ Somado a este, pode-se verificar em estudos ao redor do mundo a possível transferência de micro-organismos resistentes entre humanos e animais, e até mesmo a presença de grupos clonais em diferentes reservatórios.³⁹⁻⁴¹

Com os dados apresentados neste estudo, os quais

demonstram alto percentual de contaminação por bactérias patogênicas em amostras de carne moída analisadas, pode-se ressaltar a necessidade da manutenção de boas práticas de higiene e conservação durante a manipulação e transporte de alimentos de origem animal, visto que estes são um importante reservatório de cepas bacterianas resistentes. Além disto, com base nos resultados do perfil de suscetibilidade dos isolados, torna-se importante o aumento na vigilância sobre a utilização de antibióticos na medicina veterinária, advertindo que no Brasil o uso de antimicrobianos na suplementação animal é restrito.⁴²

REFERÊNCIAS

1. Piragini KO. Aspectos higiênicos e sanitários do preparo da merenda escolar na rede estadual de ensino de Curitiba. Dissertação de mestrado do Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 107p.
2. Food and Agriculture Organization. Situacion de los mercados de productos básicos 2000–2001 [Internet] 2002 [citado 2014 nov 25]. Disponível em: <http://www.fao.org>.
3. Ministério da Agricultura (BR). Exportação [Internet]. [citado 2015 nov 27]. Disponível em: agricultura.gov.br/animal/exportacao.
4. Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes. Exportações Brasileiras de Carne Bovina 2014 [Internet] 2015 [citado 2016 jan 15]. Disponível em: <http://www.abiec.com.br/>.
5. Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes. Exportações Brasileiras de Carne Bovina 2016 [Internet] 2016 [citado 2016 ago 17]. Disponível em: <http://www.abiec.com.br/>.
6. Órdoñez JA. Tecnologia de Alimentos: Alimentos de Origem Animal. São Paulo: Artmed. 2007. 280p.
7. Heuvelink AE, Roessink GL, Bosboom K, et al. Zero tolerance for fecal contamination of carcasses as a tool in the control of O157 VTEC infections. *Int J Food Microbiol* 2001;66(1-2):13-20.
8. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC. n 12, 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos em Alimentos. In: Diário Oficial as República Federativo do Brasil [Internet] 2001 [citado 2015 out 10] Disponível em: <http://elegis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php.word//>.
9. Newell DG, Koopmans M, Verhoef L, et al. Food-borne disease—the challenges of 20 years ago still persist while new ones to emerge. *Intern J Food Microbiol* 2010;139(Suppl 1):3-15. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.01.021
10. Moura APBL, Acioli R, Duarte DAM, et al. Caracterização e perfil de sensibilidade de *Staphylococcus* spp. isolados de amostras de carne caprina em mercados e supermercados em Recife, PE. *Arq Inst Biol* 2006;73(1):7-15.
11. Hennekinne JA, Buyser ML, Dragacci S. *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. *FEMS Microbiol Rev* 2011;36(4):815-36. doi: 10.1111/j.1574-6976.2011.00311.x
12. World Gastroenterology Organization. Guia Prático da Organização Mundial de Gastroenterologia: Diarréia Aguda [Internet] 2008 [citado 2014 out 15]. Disponível em: <http://www.who.int/topics/diarrhoea/en/>.
13. Kotwani A, Chaudhury RR, Holloway K. Antibiotic-prescribing practices of primary care prescribers for acute diarrhea in New Delhi, India. *Value in Health* 2012;15(suplem. 1):S116-S19. doi: 10.1016/j.jval.2011.11.008
14. Silva N, Junqueira VCA, Silveira NFA. Manual de métodos de análises microbiológicas de alimentos. São Paulo: Varela. 1997. 315p.
15. Kirb WM, Bauer AW. Antibiotic Susceptibility Testing a Standardized Single Disk Method. *Am J Clin Pathol* 1966;45(4):493-96. doi:10.1016/j.jval.2011.11.008
16. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute, National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. Approved Standard M02-A11 2012; 32(3).
17. Bosilevac JM, Guerini MN, Norasak K, et al. Prevalence and characterization of *Salmonellae* in commercial ground beef in the United States. *Appl Environ Microbiol* 2009;75(7):1882-1900. doi: 10.1128/AEM.02530-08
18. Alcântara MA, Gatto IRH, Kozusny-Andreani DI. Ocorrência e perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos de micro-organismos isolados de cortes de carne bovina. *Veterinária em Foco* 2012;10(1):80-92.
19. Franco BDGM, Landgraf M. Microbiologia de Alimentos, São Paulo: Atheneu. 2008. 185p.
20. Abdaslam SA, Hassam MA, Kaheel HH, et al. Isolation of *Escherichia coli* O157 and other food borne pathogens from meat products and their susceptibility to different antimicrobial agents. *Curr Res Microbiol and Biotechnol* 2014;2(3):391-97.
21. Dias PA, Conceição RCS, Coelho FJO, et al. Qualidade higiênico-sanitária de carne bovina moída e de embutidos frescos comercializados no sul do Rio Grande do Sul. *Arq Inst Biol* 2008;75(3):359-63.
22. Sousa TM, Neto AC, Hernandez T, et al. Microrganismos patogênicos e indicadores de condições higiênico-sanitária em carne moída comercializada na cidade de Barra do Garças, MT. *Acta Veter Bras* 2012;6(2):124-30. doi: doi.org/10.21708/avb.2012.
23. Almeida AS, Gonçalves PMR, Franco RM. *Salmonella* em corte de carne bovina inteiro e moído. *Rev Hig Alim* 2002;16(96):77-81.
24. Allerberger F, Liesegang A, Grif K, et al. Occurrence of *Salmonella* enteric serovar Dublin in Austria. *Wien Med Wochenschr* 2003;153(7-8):148-52.
25. André MC, Campos MRH, Borges LJ, et al. Comparison of *Staphylococcus aureus* isolates from food handlers, raw bovine milk and minas frescal cheese by antibiograma and pulsed-field gel electrophoresis following small digestion. *Food Control* 2001;19(2):200-07.
26. Martins SCS, Martins CM, Albuquerque LMB, et al. Perfil de resistência de cepas de *Staphylococcus coagulase positiva* de manipuladores de alimentos. *Bol Centro Pesq Process Alimen* 2009;27(1):1-10. doi: doi.org/10.5380/cep.v27i1.14950
27. Jay JM. Microbiologia de Alimentos. Porto Alegre: ArtMed. 2005. 620p.
28. ICMFS. International commission on microbiological

- specification for foods. Microorganismos de los alimentos: su significado y metodos de emuneración. Zaragoza: Acribia. 2000. 367 p.
29. Tessmann C, Zocche F, Lima AS, et al. Ocorrência e perfil de sensibilidade a antibióticos de *Salmonella* spp. isolada em cortes de carne suína comercializados em feiras-livres de Pelotas (RS). *Bol Centro Pesq Process Alim* 2008;26(2):307-13. doi: doi.org/10.5380/cep.v26i2.13294
 30. Phillips I, Casewell M, Cox T, et al. Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. *J Antimicrob Chemother* 2004;53(1):28-52. doi: 10.1093/jac/dkq483
 31. Fariña N, Sanabria R, Laspina F, et al. Actividad in vitro de fluoroquinolonas em bacilos gram negativos aislados de urucultivos de pacientes ambulatorios. *Mem Inst Investig Cienc Salud* 2007;3(1):15-18.
 32. Nascimento AR, Serra JL, Martins AGLA, et al. Efeito inibitório do óleo essencial do *Eucalyptus* sp., puro e associado a antibióticos, frente a cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* isoladas de manipuladores, alimentos, areia e água do mar. *Bol Cent Pesq Process Alim* 2010;28(1):141-48. doi: 10.5380/cep.v28i1.17905
 33. Tadesse DA, Zhao S, Tong E, et al. Antimicrobial drug resistance in *Escherichia coli* from humans and food animals, United States, 1950-2002. *Emerg Infect Dis* 2012;18(5):741-49. doi: 10.3201/eid1805.111153
 34. Peresi JTM, Almeida IAZC, Cardiga EA, et al. Suscetibilidade antimicrobiana de cepas de *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* spp. isoladas de alimentos envolvidos em surtos de doenças bacterianas transmitidas por alimentos, ocorridos na região noroeste do Estado de São Paulo, no período de abril de 1990 a dezembro de 2003. *Rev Inst Adolfo Lutz* 2006;65(2):112-17.
 35. Morgan DJ, Okeke I.N, Laxminarayan R, et al. Non-prescription antimicrobial use worldwide: a systematic review. *Lancet Infect Dis* 2011;11(9):692-701. doi: 10.1016/S1473-3099(11)70054-8.
 36. Waters AE, Contente-Cuomo T, Buchhagen J, et al. Multidrug-resistance *Staphylococcus aureus* in US meat and poultry. *Clin Infect Dis* 2011;52(10):1227-230. doi: 10.1093/cid/cir181
 37. Verraes C, Boxtael SV, Meervenve EV, et al. Antimicrobial resistance in the food chain: a review. *Inter J Environ Res Public Health* 2013;10(7):2643-669. doi: 10.3390/ijerph10072643
 38. Malorny B, Schroeter A, Guerra B, et al. Incidence of quinolone resistance in strains of *Salmonella* isolated from poultry, cattle and pigs in Germany between 1998 and 2001. *Veter Rec* 2003;153(21):643-48.
 39. Lee JH. Methicillin (oxacillin)-resistant *Staphylococcus aureus* Strains isolated from major food animals and their potential transmission to humans. *Appl Environ Microbiol* 2003;69(11):6489-494.
 40. Marimón JM, Gomáriz M, Zigorraga C, et al. Increasing prevalence of quinolone resistance in human nontyphoid *Salmonella enterica* isolates obtained in Spain from 1981 to 2003. *Antimicrob Agents and Chemother* 48(10):3789-793. doi: 10.1128/AAC.48.10.3793.2004
 41. Weese JS, Avery BP, Reid-Smith RJ. Detection and quantification of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) clones in retail meat products. *Lett App Microbiol* 2010; 51(3):338-42. doi: 10.1111/j.1472-765x.2010.02901.x
 42. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Legislação relacionada aos produtos de uso veterinário [Internet] 2012 [citado 2014 dez 17] 401p. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/cartilha_produtos.pdf