

## Suscetibilidade antimicrobiana de *Salmonella* spp e *Staphylococcus aureus* isolados de carnes bovinas comercializadas em Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil

*Antimicrobial susceptibility of Salmonella spp and Staphylococcus aureus isolated from beef sold in Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil*

Daniele Bier<sup>1\*</sup> , Carina Elisei de Oliveira<sup>1</sup> , Eduarda de Cássia Lima Brugeff<sup>1</sup> , Michele Silva Areco<sup>1</sup> , Isabella Nunes de Araújo Ramos<sup>1</sup> , Agatha Alecxandra Pinesso Brunetta<sup>1</sup> , Dhanieli Pereira Andrade<sup>1</sup> 

<sup>1</sup>Universidade Católica Dom Bosco (UCDB), Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil

\*Correspondente: [danielebier@ucdb.br](mailto:danielebier@ucdb.br)

### Resumo

As falhas na qualidade higiênico-sanitária da carne podem ser identificadas a partir da avaliação de microrganismos patogênicos que comprometem a qualidade microbiológica do alimento e podem veicular doenças de origem alimentar. O presente estudo objetivou avaliar a qualidade higiênico-sanitária de carnes bovinas comercializadas em supermercados, açougues e mercados públicos da cidade de Campo Grande (Mato Grosso do Sul, Brasil) por meio da pesquisa e caracterização fenotípica e genotípica de *Salmonella* spp. e *Escherichia coli* produtora de toxina Shiga (STEC) e pesquisa e contagem de *Staphylococcus aureus*. Foram avaliadas 71 amostras de carne bovina de 17 estabelecimentos comerciais que foram submetidas a pesquisa de detecção de *Salmonella* spp., *Escherichia coli* produtora de toxina Shiga (STEC) e pesquisa e contagem de *Staphylococcus aureus*. Os isolados obtidos foram submetidos ao perfil de sensibilidade aos antimicrobianos pelo teste de difusão em disco, de acordo com o *Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI)*. Constatou-se a presença de *Salmonella* em 7,04% das amostras avaliadas, sendo que 70,0% dos isolados foram sensíveis aos antimicrobianos testados. Em relação ao *Staphylococcus aureus*, 25,35% das amostras foram positivas com contagens variando entre  $1,0 \times 10^2$  a  $4,3 \times 10^4$  UFC/g, sendo que os isolados apresentaram resistência para penicilina (62,5%), tetraciclina (18,75%) e cloranfenicol (6,25%). Nenhuma amostra apresentou-se positiva para STEC. A detecção desses patógenos em alimentos representa um perigo a saúde pública, principalmente, devido a presença de isolados resistentes a antimicrobianos. Além disso, ressalta-se a necessidade do emprego das boas práticas de higiene e fabricação nos estabelecimentos varejistas.

**Palavras-chave:** antibiótico; comércio varejista; patógenos alimentares; resistência.

### Abstract

Hygiene failures in meat can be identified based on the evaluation of pathogenic microorganisms, which compromise the microbiological quality of food and can transmit food-borne diseases. The aim of the present study was to evaluate the hygienic quality of beef sold at supermarkets, butcher shops and public markets in the city of Campo Grande, state of Mato Grosso do Sul, Brazil, through the phenotypic and genotypic characterization of *Salmonella* spp. and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) as well as the investigation and quantification of *Staphylococcus aureus*. Seventy-one samples of beef from 17 commercial establishments were evaluated. Isolates were tested for antimicrobial susceptibility using the disk diffusion method recommended by the *Clinical & Laboratory Standards Institute*. *Salmonella* was found in 7.04% of the samples and 70.0% of the isolates were sensitive to the antimicrobials tested. A total of 25.35% of the samples were positive for *Staphylococcus aureus*, with counts ranging from  $1.0 \times 10^2$  to  $4.3 \times 10^4$  CFU/g; these isolates exhibited resistance to penicillin (87.5%), tetracycline (18.75%) and chloramphenicol (6.25%). None of the samples was positive for STEC. The detection of these pathogens in food poses a danger to public health, mainly due to the presence of antimicrobial-resistant isolates. These findings underscore the need for good hygiene and manufacturing practices at retail establishments.

**Keywords:** antibiotic; retail trade; food pathogens; resistance.

Recebido: 20 de abril de 2022. Aceito: 21 de julho de 2022. Publicado: 9 de setembro de 2022.



## Introdução

A comercialização de carne bovina *in natura* deve atender os requisitos microbiológicos determinados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) no Brasil<sup>(1)</sup>, assim como as boas práticas estipuladas e monitoradas para esse serviço de alimentação por esse órgão sanitário<sup>(2)</sup>. Bovinos são portadores assintomáticos de patógenos entéricos, como *Salmonella* spp. e *Escherichia coli* produtora de toxina Shiga (STEC) O157:H7, e possuem bactérias na microbiota do couro, como *Staphylococcus aureus*, que podem ser transportadas para a carcaça durante o processo de abate, e contaminar a carne<sup>(3)</sup>. A carne bovina possui fatores intrínsecos que contribuem para a multiplicação bacteriana, podendo veicular patógenos ao ser humano<sup>(4)</sup>, aumentando o risco de doenças transmitidas por alimentos.

A carne bovina *in natura* é reportada como um dos principais veículos para a transmissão de doenças de origem alimentar<sup>(5)</sup>. Entretanto, a atribuição à carne nas doenças transmitidas por alimentos varia de país para país e é dependente de três fatores principais: o agente patogênico veiculado, o consumo *per capita* dos produtos de carne bovina e o hábito de cozimento e consumo da carne no país<sup>(6)</sup>. Dados epidemiológicos apontam que esse alimento foi um dos mais incriminados em surtos alimentares no país, sendo responsável por 5,3% dos casos<sup>(7)</sup>. Algumas características no varejo são consideradas práticas incorretas na comercialização, que contribuem de forma significativa para o desenvolvimento bacteriano na carne, como a falta de treinamento dos manipuladores em boas práticas, a ausência de higiene na área de trabalho, o uso de utensílios e equipamentos mal higienizados, além de temperaturas de risco e contaminação cruzada<sup>(8-4)</sup>.

Diante do exposto, objetivou-se avaliar a qualidade higiênica-sanitária de carnes bovinas comercializadas em supermercados, açougues e mercados públicos na cidade de Campo Grande (Mato Grosso do Sul, Brasil) por meio da pesquisa e caracterização fenotípica e genotípica de *Salmonella* spp. e *Escherichia coli* produtora de toxina Shiga (STEC) e pesquisa e contagem de *Staphylococcus aureus*.

## Material e métodos

### Coleta das amostras

Durante o período de agosto de 2016 a agosto de 2018 foram coletadas 71 amostras de carnes fracionadas bovinas, *in natura*, procedentes de

diferentes supermercados, açougues e mercados públicos, escolhidos aleatoriamente, localizados na cidade de Campo Grande, MS. As amostras foram adquiridas em quantidade aproximada de 300 gramas cada, sendo pesadas e embaladas pelos funcionários dos estabelecimentos, utilizando material do próprio local, na forma tradicional de venda, assim reproduzindo o que acontece normalmente na relação comerciante/consumidor. As amostras foram obtidas da seção de açougue das lojas ou diretamente dos balcões refrigerados, próximos às seções de açougues. Todas as amostras foram transportadas acondicionadas em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável.

### Preparo da amostra inicial

Foram adicionados 225 mL de água peptonada tamponada (APT) 1% em  $25 \pm 0,2$  g de cada amostra de carne, homogeneizado por aproximadamente 60 segundos em “stomacher” e incubado a  $37 \pm 1^\circ$  C por  $18 \pm 2$  h. Esta foi considerada a amostra inicial (diluição  $10^{-1}$ ) para todas as técnicas descritas a seguir.

### Deteção de *Salmonella* spp.

Para a detecção de *Salmonella* spp. nas amostras de carne foi utilizada a metodologia descrita no *International Organization for Standardization* (ISO 6579:2002)<sup>(9)</sup> com modificações. Após os passos de enriquecimento (com APT), seleção (com caldo Tetrationato Muller-Kauffmann com novobiocina e caldo Rappaport-Vassiliadis Soja) e diferenciação (com ágar xilose-lisina-desoxicolato e ágar *Salmonella-Shigella*), as colônias suspeitas de *Salmonella* spp., isoladas em ágar nutriente, foram submetidas às provas bioquímicas complementares, compostas pelas provas de indol, ureia, motilidade, descarboxilação de lisina, produção de  $H_2S$ , Vermelho de Metila, Voges-Proskauer, fermentação de carboidratos, citrato e  $\beta$ -galactosidase.

### PCR para confirmação de *Salmonella* spp.

Após incubação a  $37^\circ$  C por 18-24 horas as cepas de *Salmonella* spp. semeadas em meio TSA, uma porção dessa cultura foi transferida para microtubos contendo 100  $\mu$ L de água ultra-purificada esterilizada (Milli-Q, Millipore) e centrifugada a  $14000 \times g$  por 3 segundos. Para a extração do DNA bacteriano utilizou-se o “kit” comercial DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN, Valencia, CA, EUA), seguindo as instruções do fabricante. As cepas isoladas de *Salmonella* spp. foram pesquisadas quanto à presença do gene de virulência *invA*, segundo Skyberg et al.<sup>(10)</sup>. Os produtos amplificados foram aplicados em gel de agarose 1,5% em TBE 0,5X para a realização da eletroforese por

aproximadamente 40 minutos a 70 V em cuba horizontal, contendo TBE 0,5X. O gel foi corado com SYBR Gold (Invitrogen, EUA) e a imagem registrada através de sistema de fotodocumentação.

#### *Deteção de Escherichia coli produtora de toxina de shiga (STEC)*

Para a detecção de *Escherichia coli* produtora de toxina de Shiga (STEC) nas amostras de carne bovina a metodologia utilizada foi a descrita no *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*, 2001<sup>(11)</sup>.

#### *PCR para pesquisa de genes produtores de toxina*

As cepas confirmadas como *E. coli* foram submetidas a técnica de PCR para pesquisa dos genes *stx1* e *stx2*, segundo metodologia descrita por Paton & Paton<sup>(12)</sup>. Os isolados obtidos das amostras de carne bovina e as cepas controle foram semeados em caldo BHI e incubados a 35° C por 18-24 h. Aliquotas de 1 mL do caldo foram submetidas à centrifugação (14.000 xg) por dois minutos. Para a extração do DNA bacteriano utilizou-se o “kit” comercial DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN, Valencia, CA, EUA), seguindo as instruções do fabricante. Para a realização da PCR multiplex foi preparada uma solução contendo 2,5 µL de *Taq* Buffer 10x, 0,75 µL de MgCl<sub>2</sub> (50mM), 1,0 µL de dNTP (5 mM), 0,15 µL de *Taq* DNA polimerase e 3 µL de DNA (aproximadamente 20 ng), adicionando-se os 4 pares de *primers* (IDT, Integrated DNA Technologies, EUA) nas concentrações de 10 pmoles e água ultrapura livre de DNase e RNase (Invitrogen, EUA) para um volume final de reação de 25 µL. Os produtos amplificados foram aplicados em gel de agarose 1,0% em TBE 1X para a realização da eletroforese por aproximadamente 60 minutos a 100 V em cuba horizontal, contendo TBE 1X. Após, o gel foi corado com SYBR Gold (Invitrogen, EUA) e a imagem registrada através de um sistema de fotodocumentação.

#### *Contagem de Staphylococcus aureus*

Para a detecção e contagem de *Staphylococcus aureus* utilizou-se a metodologia descrita na Instrução Normativa nº 62, de agosto de 2003 - Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água<sup>(13)</sup>.

#### *Perfil de susceptibilidade antimicrobiana*

O perfil de susceptibilidade antimicrobiana das cepas isoladas de *Salmonella* spp. e *Staphylococcus aureus* foi determinado de acordo com *The Clinical and Laboratory Standards Institute*<sup>(14)</sup>, empregando-se os

seguintes antimicrobianos: Cefepime (30µg), Ciprofloxacina (5µg), Cloranfenicol (30µg), Gentamicina (10µg) e Tetraciclina (30µg). Para *Salmonella* foi adicionado também Ampicilina (10µg) e para *Staphylococcus aureus* Penicilina (10 µg). Os resultados do perfil de susceptibilidade foram interpretados de acordo com as instruções do fabricante. Foi realizada análise estatística descritiva do perfil de sensibilidade e resistência aos antimicrobianos, calculando a frequência absoluta e relativa. O índice de Resistência Múltipla a Antibióticos (RAM) foi realizado de acordo com o descrito por Krumperman<sup>(15)</sup>.

#### *Cepas controle*

Cepas da Coleção de Microrganismos de Referência em Vigilância Sanitária-CRMVS, FIOCRUZ-INCQS, Rio de Janeiro, RJ, foram utilizadas como controles negativos e positivos para todas as técnicas: *Escherichia coli* INCQS 00033 (ATCC 25922), *Escherichia coli* INCQS 00171 (CDC EDL-933), *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis INCQS 00258 (ATCC 13076) e *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium INCQS 00150 (ATCC 14028). Além dessas, foi utilizada a cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

## **Resultados e discussão**

Das 71 amostras de carne bovina adquiridas em 17 diferentes estabelecimentos, cinco (7,04%) foram positivas para *Salmonella* spp, provenientes de dois supermercados, A e I (Tabela 1). Diversos estudos reportaram a ocorrência desse patógeno em carnes bovinas *in natura* no varejo, com taxas que variavam entre 7,10% a 86,67%<sup>(17,18,19,20,21)</sup>. A presença dessa bactéria em produtos cárneos representa um risco à saúde do consumidor<sup>(16)</sup> e pode demonstrar condições impróprias nas etapas de obtenção, processamento, manipulação e/ou comercialização da matéria-prima<sup>(22)</sup>. Hussain et al.<sup>(23)</sup> relacionaram a ausência desse microrganismo em amostras de carnes bovinas com a utilização de boas práticas de higiene e manipulação nos supermercados.

A legislação brasileira determina como parâmetro microbiológico a ausência de *Salmonella* spp. em 25 gramas de carne bovina *in natura* analisada<sup>(1)</sup>, indicando que as amostras de carnes positivas encontradas neste estudo não eram seguras para consumo. A presença desse patógeno no alimento pode causar casos de gastroenterite, febres e cólicas estomacais, podendo levar a casos mais graves, sobretudo em crianças, idosos e imunossuprimidos<sup>(24)</sup>.

**Tabela 1.** Resultados das análises microbiológicas de carnes bovinas *in natura* obtidas de estabelecimentos comerciais de Campo Grande, no Mato Grosso do Sul, Brasil

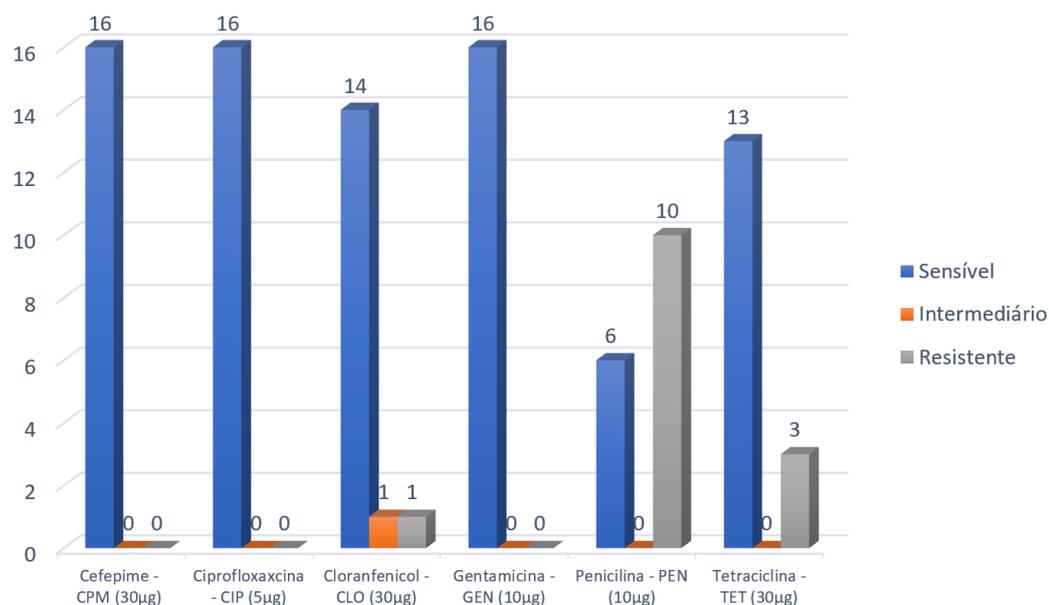
Amostra	Corte cárneo	Estabelecimento	<i>Salmonella</i> spp. em 25g	<i>S. aureus</i> (UFC/g)	<i>Escherichia coli</i> (STEC)
1	Contrafilé	Mercado A	Presença	---	Ausência
2	Patinho	Mercado A	Presença	---	Ausência
3	Ponta de peito	Mercado A	Ausência	---	Ausência
4	Alcatra	Mercado A	Ausência	---	Ausência
5	Músculo	Mercado A	Ausência	---	Ausência
6	Miolo de agulha	Mercado B	Ausência	14,8 x 10 <sup>3</sup>	Ausência
7	Coxão mole	Mercado B	Ausência	11 x 10 <sup>3</sup>	Ausência
8	Paleta	Mercado B	Ausência	---	Ausência
9	Ponta de peito	Mercado B	Ausência	---	Ausência
10	Ponta de peito	Mercado B	Ausência	---	Ausência
11	Coxão duro	Mercado C	Ausência	---	Ausência
12	Contrafilé	Mercado C	Ausência	---	Ausência
13	Coxão mole	Mercado C	Ausência	---	Ausência
14	Coxão mole	Mercado C	Ausência	---	Ausência
15	Picanha	Hipermercado D	Ausência	---	Ausência
16	Coxão mole	Hipermercado D	Ausência	---	Ausência
17	Contrafilé	Hipermercado D	Ausência	---	Ausência
18	Retalho	Mercado E	Ausência	---	Ausência
19	Músculo	Mercado E	Ausência	---	Ausência
20	Coxão duro	Hipermercado F	Ausência	---	Ausência
21	Coxão mole	Hipermercado F	Ausência	---	Ausência
22	Alcatra	Hipermercado F	Ausência	33 x 10 <sup>3</sup>	Ausência
23	Contrafilé	Hipermercado F	Ausência	---	Ausência
24	Patinho	Hipermercado F	Ausência	---	Ausência
25	Coxão duro	Mercado G	Ausência	2,0 x 10 <sup>4</sup>	Ausência
26	Ponta de peito	Mercado G	Ausência	---	Ausência
27	Coxão mole	Mercado G	Ausência	---	Ausência
28	Músculo	Mercado G	Ausência	30 x 10 <sup>3</sup>	Ausência
29	Alcatra	Mercado G	Ausência	---	Ausência
30	Coxão mole	Hipermercado H	Ausência	---	Ausência
31	Contrafilé	Hipermercado H	Ausência	---	Ausência
32	Alcatra	Hipermercado H	Ausência	---	Ausência
33	Coxão duro	Hipermercado H	Ausência	---	Ausência
34	Patinho	Hipermercado H	Ausência	---	Ausência
35	Coxão mole	Mercado I	Presença	---	Ausência
36	Coxão duro	Mercado I	Presença	---	Ausência
37	Patinho	Mercado I	Ausência	---	Ausência
38	Músculo	Mercado I	Presença	---	Ausência
39	Alcatra	Mercado I	Ausência	---	Ausência
40	Ponta de peito	Supermercado J	Ausência	---	Ausência
41	Contrafilé	Supermercado J	Ausência	---	Ausência
42	Alcatra	Supermercado J	Ausência	---	Ausência
43	Patinho	Supermercado J	Ausência	---	Ausência
44	Patinho	Açougue K	Ausência	---	Ausência
45	Alcatra	Açougue K	Ausência	---	Ausência
46	Ponta de peito	Açougue K	Ausência	---	Ausência
47	Contrafilé	Açougue K	Ausência	---	Ausência
48	Patinho	Supermercado L	Ausência	18 x 10 <sup>4</sup>	Ausência
49	Alcatra	Supermercado L	Ausência	---	Ausência
50	Ponta de peito	Supermercado L	Ausência	---	Ausência
51	Contrafilé	Supermercado L	Ausência	---	Ausência
52	Patinho	Mercado M	Ausência	---	Ausência
53	Alcatra	Mercado M	Ausência	---	Ausência
54	Ponta de peito	Mercado M	Ausência	---	Ausência
55	Contrafilé	Mercado M	Ausência	---	Ausência
56	Patinho	Hipermercado N	Ausência	---	Ausência
57	Alcatra	Hipermercado N	Ausência	9,2 x 10 <sup>3</sup>	Ausência
58	Ponta de peito	Hipermercado N	Ausência	---	Ausência
59	Contrafilé	Hipermercado N	Ausência	---	Ausência
60	Ponta de peito	Mercado O	Ausência	---	Ausência
61	Contrafilé	Mercado O	Ausência	43 x 10 <sup>3</sup>	Ausência
62	Alcatra	Mercado O	Ausência	50 x 10 <sup>3</sup>	Ausência
63	Patinho	Mercado O	Ausência	21 x 10 <sup>3</sup>	Ausência
64	Ponta de peito	Açougue P	Ausência	17 x 10 <sup>3</sup>	Ausência
65	Contrafilé	Açougue P	Ausência	21 x 10 <sup>3</sup>	Ausência
66	Alcatra	Açougue P	Ausência	43 x 10 <sup>3</sup>	Ausência
67	Lagarto	Açougue P	Ausência	10 x 10 <sup>3</sup>	Ausência
68	Ponta de peito	Açougue Q	Ausência	19 x 10 <sup>3</sup>	Ausência
69	Coxão mole	Açougue Q	Ausência	21 x 10 <sup>3</sup>	Ausência
70	Alcatra	Açougue Q	Ausência	91 x 10 <sup>3</sup>	Ausência
71	Patinho	Açougue Q	Ausência	47 x 10 <sup>3</sup>	Ausência
Tolerância			Ausência	-	Ausência

Com relação à pesquisa de *E. coli* produtora de *Shiga* (STEC), nenhuma amostra testada neste estudo foi positiva para esse patógeno (Tabela 1). Obteve-se apenas um isolado bioquimicamente positivo de *E. coli*, o qual foi testado, por meio da técnica de PCR, para os genes *Stx1* e *Stx2*, associado à virulência., porém, o isolado não apresentou fragmentos específicos para os genes *Stx*. A maioria dos casos e dos surtos causados pela STEC têm sido atribuídos ao consumo de carne bovina e suína<sup>(25,26)</sup>. As duas enterotoxinas *Shiga* (*stx1* e *stx2*), que são produzidas por essa linhagem, são as responsáveis pelas manifestações clínicas no paciente, como a diarreia sanguinolenta e a síndrome hemolítica-urêmica<sup>(27,30)</sup>. A ausência ou baixa prevalência de STEC na carne bovina também foi reportada em outras pesquisas<sup>(24,28,29,30)</sup>. Uma razão para a ausência dessas cepas nas carnes, pode ser pela capacidade desta bactéria entrar em um estado viável, mas não cultivável (VBNC) dificultando sua detecção através de métodos convencionais<sup>(31)</sup>. Meyer-Broseta et al.<sup>(32)</sup> argumentam que as baixas prevalências descritas em 26 estudos publicados sobre contaminação de bovinos por cepas de STEC são, provavelmente, subestimadas devido às amostragens.

Quanto à contagem de *Staphylococcus aureus*, 25,35% (18/71) das amostras foram positivas, com valores variando entre  $1,0 \times 10^2$  a  $4,3 \times 10^4$  UFC/g (Tabela 1). De forma semelhante, Naas et al.<sup>(33)</sup> identificaram a presença dessa bactéria em 35,5% das amostras de carnes bovinas *in natura* no varejo. Baghbaderani et al.<sup>(34)</sup> ao verificarem alta incidência de *S. aureus* em carnes bovinas, relacionaram esse achado com os níveis de

higiene dos comércios varejistas e com a manipulação excessiva ou inadequada desse alimento. Apesar da legislação brasileira não determinar limites da presença desse patógeno na carne bovina *in natura*<sup>(1)</sup>, a pesquisa de *S. aureus* em alimentos pode servir como um indicador das condições higiênicas e das boas práticas de fabricação dos estabelecimentos comerciais<sup>(35)</sup>. Resultados inferiores a  $10^3$  UFC/g de *S. aureus*, podem indicar condições higiênicas inapropriadas e/ou processamento ineficiente, porém, valores entre  $10^3$  e  $10^4$  UFC/g, sugerem um risco à saúde pública. Os valores próximos a  $10^5$  UFC/g são considerados críticos podendo indicar risco epidemiológico já que nessa quantidade pode ocorrer o início da produção de enterotoxinas pela bactéria<sup>(36)</sup>.

O perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos dos isolados de *Staphylococcus aureus* (Figura 1) revelaram que os isolados apresentaram 62,5% de resistência a Penicilina (10 µg). Porém, apresentaram 100% de sensibilidade aos antimicrobianos Cefepime (30 µg), Ciprofloxacina (5 µg) e Gentamicina (10 µg). Do total de isolados, o índice de múltipla resistência antimicrobiana (RAM) variou entre 0,16 a 1,6. Alguns trabalhos também evidenciaram resistência de isolados *S. aureus* aos β-lactâmicos, dentre eles a penicilina<sup>(33,36)</sup> e sensibilidade às classes dos aminoglicosídeos, quinolonas e tetraciclina<sup>(34, 37)</sup>. A maioria dos isolados (87,5%) apresentou sensibilidade ao Cloranfenicol (30 µg), corroborando com os resultados encontrados no estudo de Irkin et al.<sup>(37)</sup>, no qual todos os isolados de *S. aureus* obtidos de produtos cárneos foram sensíveis a esse antibiótico.

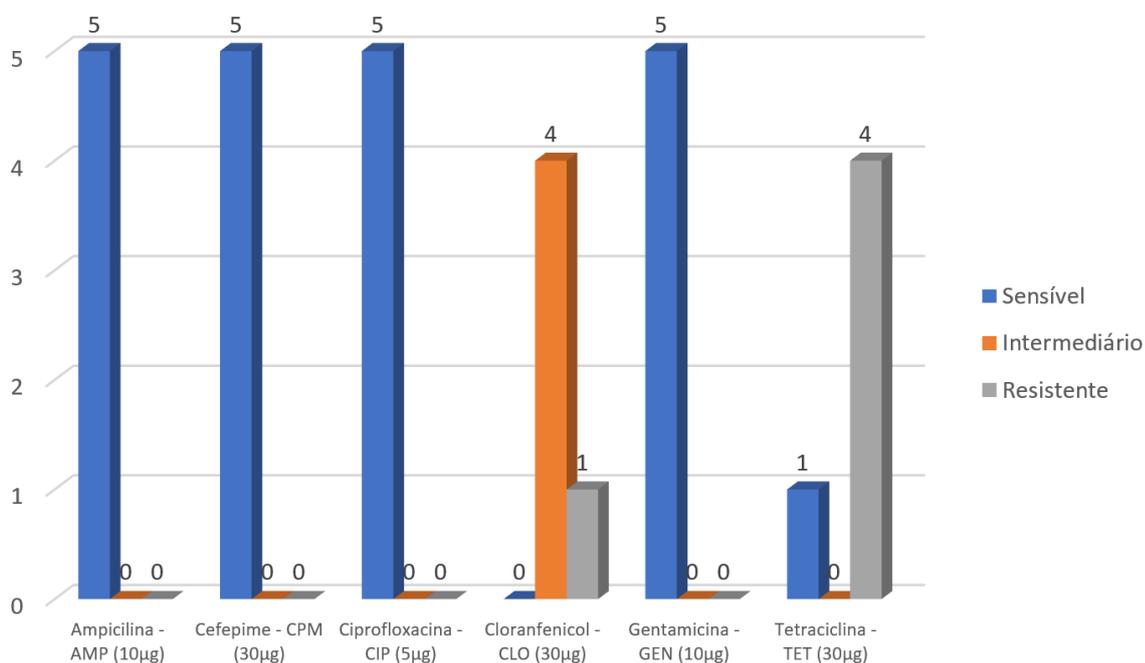


**Figura 1.** Número de isolados de *Staphylococcus aureus* provenientes de carne bovina *in natura* comercializados na cidade de Campo Grande (Mato Grosso do Sul, Brasil) com sensibilidade, resistência intermediária e resistência aos antimicrobianos testados.

Em relação aos isolados de *Salmonella* spp, verificou-se que o RAM foi entre 0,16 a 0,33, sendo que 100% destes foram sensíveis a Ampicilina (10 µg), Ciprofloxacina (5 µg) e Gentamicina (10 µg) (Figura 2). Além disso, 80% dos isolados apresentaram resistência a Tetraciclina (30 µg).

O perfil de sensibilidade a antimicrobianos permite a rastreabilidade da propagação de cepas multirresistentes<sup>(38,39)</sup>. A presença de cepas multirresistentes de *Salmonella* spp. em carnes no varejo já foi reportada por alguns estudos<sup>17,19</sup>. A alta porcentagem

de sensibilidade verificada nos isolados do presente estudo descartam a presença dessas cepas nas amostras analisadas. De forma semelhante ao presente trabalho, Ekli et al.<sup>(21)</sup>, reportaram inibição dos isolados de *Salmonella* spp. em carne bovina ao testarem Gentamicina e Ciprofloxacina. A susceptibilidade a esses antimicrobianos nesse alimento também foi relatada por Bergamo et al.<sup>(19)</sup> e Thung et al.<sup>(17)</sup>. Esse patógeno apresenta menores índices de resistência aos antibióticos da classe das fluoroquinolonas e aminoglicosídeos comparado às outras enterobactérias<sup>(40)</sup>.



**Figura 2.** Número de isolados de *Salmonella* spp., provenientes de carne bovina *in natura* comercializados em Campo Grande (Mato Grosso do Sul, Brasil) com sensibilidade, resistência intermediária e resistência aos antimicrobianos testados.

## Conclusão

A presença de *Salmonella* spp e *Staphylococcus aureus* em carnes bovinas comercializadas em supermercados representam um risco direto para o consumidor e podem indicar manipulação inadequada desse alimento. Em 10 dos 17 estabelecimentos amostrados, pelo menos uma amostra de carne foi positiva para algum dos dois patógenos estudados, evidenciando a necessidade de adoção de práticas de higiene mais rigorosas, para reduzir a contaminação no produto final. A única cepa de *E. coli* isolada não apresentou nenhum dos genes *stx1* e *stx2*, associado à virulência dessa bactéria. Os isolados apresentaram variabilidade de sensibilidade aos antimicrobianos,

apresentando alta sensibilidade à maioria dos antibióticos testados. De todo modo, a resistência observada frente a alguns antimicrobianos reforça o risco desses alimentos contaminados para o consumidor.

## Declaração de conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

## Contribuições do autor

*Conceituação:* D. Bier. *Gerenciamento do projeto:* D. Bier. *Supervisão:* D. Bier. *Redação (revisão e edição):* D. Bier. *Redação (esboço original):* D. Bier e E.C.L. Brugeff. *Recursos:* C.E. Oliveira. *Investigação:* C.E. Oliveira, E.C.L. Brugeff, M.S. Areco, I.N.A. Ramos, A.A.P. Brunetta e D.P. Andrade.

### Agradecimentos

Os autores agradecem a Universidade Católica Dom Bosco, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pelo suporte financeiro, pessoal e físico.

### Referências

1. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa nº 60, de 23 de dezembro de 2019. Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da União. 2019 Dez 26. Seção 1. Português.
2. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada nº 216, de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre regulamento técnico de boas práticas para serviços de alimentação. 2004 Set. Seção 1. Português.
3. Cernicchiaro N, Oliveira ARS, Hoehn A, Cull CA, Noll LW, Shridhar PB, et al. Quantification of Bacteria Indicative of Fecal and Environmental Contamination from Hides to Carcasses. Foodborne Pathog Dis [Internet]. 2019 Dez 1;16(12):844–55. Disponível em: <https://doi.org/10.1089/fpd.2019.2656>
4. Forsythe SJ. Microbiologia da segurança dos alimentos. 2nd ed. Porto Alegre: Artmed; 2013. 607p. Português.
5. Who. World Health Organization. Food Safety [Internet]. 2020 Abr 30 [citado 2021 Nov 8]. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>
6. Rhoades JR, Duffy G, Koutsoumanis K. Prevalence and concentration of verocytotoxigenic *Escherichia coli*, *Salmonella* enterica and *Listeria monocytogenes* in the beef production chain: A review. Food Microbiol [Internet]. 2009 Jun;26(4):357–76. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2008.10.012>
7. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil: Informe 2018. 2019 Jun 2 [citado 2021 Dez 12]. Disponível em: <http://www.portalarquivos2.saude.gov.br>
8. Araújo Júnior GM, Pedrosa KYF, Silva HT, Bezerra DC, Coimbra VCS, Improta CTR, et al. Condições de comercialização da carne bovina em mercados municipais e percepção de atores sociais sobre a qualidade. Brazilian Journal of Development [Internet]. 2020 Mar 26;6(3):15369–86. Disponível em: <https://doi.org/10.34117/bjdv6n3-421>
9. ISO. International Organization for Standardization. ISO 6579:2002:24 microbiology of food and animal feeding stuffs: horizontal method for the detection of 25 *Salmonella* spp. Switzerland. 2002. Disponível em: <https://s27415.pcdn.co/wp-content/uploads/2020/01/64ER20-7/Microbial/3-ISO6579-2017-Microbiology-of-the-Food-Chain-Horizontal-Method-for-the-Detection-Enumeration-and-Serotyping-of-Salmonella.pdf>. Inglês.
10. Skyberg JA, Logue CM, Nolan LK. Virulence Genotyping of *Salmonella* spp. with Multiplex PCR. Avian Dis [Internet]. 2006 Mar;50(1):77–81. Disponível em: <https://doi.org/10.1637/7417.1>
11. Meng JH, et al. Pathogenic *Escherichia coli*. In: Downes FP; Ito K. 2. ed. Compendium 17 of methods for the microbiological examination of foods. Washington: American Public Health Association; 2001. p.331-342. Inglês.
12. Paton JC, Paton AW. Pathogenesis and Diagnosis of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Infections. Clin Microbiol Rev [Internet]. 1998 Jul 1;11(3):450–79. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/CMR.11.3.450>
13. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Diário Oficial da União. 2003 Ago. Seção 1. Português.
14. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility document M100-S26. 26th ed. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2016, 177 p. Inglês.
15. Krumperman PH. Multiple antibiotic resistance indexing of *Escherichia coli* to identify high-risk sources of fecal contamination of foods. ASM Journals [Internet]. 1983 Jul 1;46(1):165–70. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/aem.46.1.165-170.1983>
16. EFSA. European Food Safety Authority. *Salmonella* [Internet]. 2021 [citado 2021 Abr 11]. Disponível em: <https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/salmonella>
17. Thung TY, Radu S, Mahyudin NA, Rukayadi Y, Zakaria Z, Mazlan N, et al. Prevalence, Virulence Genes and Antimicrobial Resistance Profiles of *Salmonella* Serovars from Retail Beef in Selangor, Malaysia. Frontiers in Microbiology [Internet] 2018 Jan 11;8: 2697. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02697>
18. Santos PDM, Widmer KW, Rivera WL. PCR-based detection and serovar identification of *Salmonella* in retail meat collected from wet markets in Metro Manila, Philippines. Plos One [Internet]. 2020 Set 30;15(9):e0239457. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239457>
19. Bergamo G, Demoliner F, Timm CD, Carvalho NR, Helbig E, Gandra EA. Formação de biofilmes e resistência a antimicrobianos de isolados de *Salmonella* spp. Ciência Animal Brasileira [Internet]. 2020 Fev 5;21: e-48029. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1809-6891v21e-48029>
20. Bernardes W da S, Andrade MA, Santos GA, Cardozo SP. Avaliação microbiológica de carne bovina moída de diferentes estabelecimentos comerciais da cidade de Mineiros, Goiás. Braz. J Dev [Internet]. 2020 Mai;6(5):29812–21. Disponível em: <https://doi.org/10.34117/bjdv6n5-437>
21. Ekli R, Adzitey F, Huda N. Prevalence of resistant *Salmonella* spp. isolated from raw meat and liver of cattle in the Wa Municipality of Ghana. IOP Conf Ser Earth Environ Sci [Internet]. 2019 Jul 1;287(1):012006. Disponível em: <https://doi.org/10.1088/1755-1315/287/1/012006>
22. Silva AA, Amorim BO, Souza MN, Batista CA, Ritter DO, Lanzarin M. Avaliação da qualidade higiênico-sanitária de carne bovina moída exposta à venda. Braz. J Dev [Internet]. 2020 Mar;6(3):10513–25. Disponível em: <https://doi.org/10.34117/bjdv6n3-070>
23. Hussain MA, Wang W, Sun, C Gu, L Liu, Z Yu, T, et al. Molecular Characterization of pathogenic *Salmonella* spp from raw beef in Karachi, Pakistan. Antibiotics [Internet]. 2020 Fev 10; 9(2): 1-15. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antibiotics902007>
24. CDC. Center for Disease Control and Prevention. *Salmonella* and Food [Internet]. 2021 Set 2 [citado 2021 Fev 13]. Disponível em: <https://www.cdc.gov/foodsafety/communication/salmonella-food.html#:~:text=Salmonella%20can%20be%20found%20in,it%20can%20make%20you%20sick>.
24. Assis DCS, da Silva TML, Brito RF, da Silva LCG, Lima WG, Brito JCM. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) in bovine meat and meat products over the last 15 years in Brazil: A systematic review and meta-analysis. Meat Science [Internet]. 2021 Mar;173:108394. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108394>

25. Stephan R, Schumacher S. Resistance patterns of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) strains isolated from animals, food and asymptomatic human carriers in Switzerland. *Letters in Applied Microbiology* [Internet]. 2001, 32, 114-117. Disponível em: <https://doi.org/10.1046/j.1472-765x.2001.00867.x>
26. Irino K, Kato MAMF, Vaz TMI, Ramos II, Souza MAC, Cruz AS, Gomes TAT, Vieira MAM, Guth BEC. Serotypes and virulence markers of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) isolated from dairy cattle in São Paulo state, Brazil. *Veterinary Microbiology* [Internet]. 2005, 105, 29-36. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2004.08.007>
27. Who. World Health Organization. *E. coli* [Internet]. 2018 Fev 7 [citado 2021 Fev 12]. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>
28. Castro VS, Teixeira LAC, Rodrigues D dos P, dos Santos LF, Conte-Junior CA, Figueiredo EE de S. Occurrence and antimicrobial resistance of *E. coli* non-O157 isolated from beef in Mato Grosso, Brazil. *Trop Anim Health Prod* [Internet]. 2019 Jan 19;51(5):1117-23.
29. Ristori CA, Rowlands REG, Martins CG, Barbosa ML, dos Santos LF, Jakabi M, et al. Assessment of consumer exposure to *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., and Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* in meat products at retail in the city of São Paulo, Brazil. *Foodborne Pathog Dis* [Internet]. 2017 Ago;14(8):447-53. Disponível em: <https://doi.org/10.1089/fpd.2016.2270>
30. Nobili G, Franconieri I, La Bella G, Basanisi MG, La Salandra G. Prevalence of Verocytotoxigenic *Escherichia coli* strains isolated from raw beef in southern Italy. *Int J Food Microbiol* [Internet]. 2017 Set;257:201-5. Disponível em: <https://doi.org/10.1089/fpd.2016.2270>
31. Ding T, Suo Y, Xiang Q, Zhao X, Chen S, Ye X, et al. Significance of viable but nonculturable *Escherichia coli*: induction, detection, and control. *J Microbiol Biotechnol* [Internet]. 2017 Mar 28;27(3):417-28. Disponível em: <https://doi.org/10.4014/jmb.1609.09063>
32. Meyer-Broseta, S., Bastian, S.N., Arné, P.D., Cerf, O. & Sanaa, M.. Review of epidemiological surveys on the prevalence of contamination of healthy cattle with *Escherichia coli* serogroup O157:H7. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. [Internet]. 2001, 203(4), 347-361. Disponível em: <https://doi.org/10.1078/1438-4639-4410041>
33. Naas HT, Edarhoby RA, Garbaj AM, Azwai SM, Abolghait SK, Gammoudi FT, et al. Occurrence, characterization, and antibiogram of *Staphylococcus aureus* in meat, meat products, and some seafood from Libyan retail markets. *Veterinary World* [Internet]. 2019 Jun;12(6):925-31. Disponível em: <https://doi.org/10.14202/vetworld.2019.925-931>
34. Baghbaderani ZT, Shakerian A, Rahimi E. Phenotypic and genotypic assessment of antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* bacteria isolated from retail meat. *Infect Drug Resistance* [Internet]. 2020 Mai 7;13:1339-49. Disponível em: <https://doi.org/10.2147/IDR.S241189>
35. CDC. Center for Disease Control and Prevention. *Staphylococcal* (Staph) Food Poisoning [Internet]. 2018 Ago 9 [citado 2021 Mai 1]. Disponível em: <https://www.cdc.gov/foodsafety/diseases/staphylococcal.html#:~:text=Staph%20bacteria%20are%20killed%20by,risky%20if%20contaminated%20with%20Staph.>
36. ICMSF. International Committee on Microbiological Specification for Food. *Microorganisms in food. 1- Their significance and methods of enumeration. 2. ed.* Toronto: University Press, 2000. 439 p. Inglês.
37. Irkin R, Bozkurt B, Tumen G. Determination of the prevalence of *Salmonella* spp. and *S. aureus* in meat products by Real-Time PCR and testing their antibiotic susceptibility\*. *Med Weter* [Internet]. 2021;77(06):6533-2021. Disponível em: <https://doi.org/10.21521/mw.6533>
38. Olsen JE, Brown DJ, Skov MN, Christensen JP. Bacterial typing methods suitable for epidemiological analysis applications in investigations of salmonellosis among livestock. *Veterinary Quarterly* [Internet]. 1993, 15(4), 125-35. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/01652176.1993.9694390>
39. Oueslati W, Rjeibi MR, Mhadhbi M, Jbeli M, Zrelli S, Etriqui A. Prevalence, virulence and antibiotic susceptibility of *Salmonella* spp. strains, isolated from beef in Greater Tunis (Tunisia). *Meat Science* [Internet]. 2016, 119, 154-9. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.04.037>
40. Souza RB, Magnani M, Oliveira TCRM. Mecanismos de resistência às quinolonas em *Salmonella* spp. *Semina: Ciênc Agrár* [Internet]. 2010 Jul 30;31(2):413. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2010v31n2p413>