UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

ERICA LORENNA BATISTA DA SILVA

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO DE GEOPRÓPOLIS DA ABELHA JANDAÍRA (*Melipona subnitida Ducke)* EM *Salmonela* sp. ISOLADAS DE CARNE BOVINA E FRANGO.

MOSSORÓ - RN
2021

ÉRICA LORENNA BATISTA DA SILVA

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO DE GEOPRÓPOLIS DA ABELHA JANDAÍRA (*Melipona subnitida Ducke)* EM *Salmonela* sp. ISOLADAS DE CARNE BOVINA E FRANGO.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Linha de Pesquisa: Tecnologia de Produtos de Origem Animal.

Orientador: Prof. Dr. Jean Berg Alves da Silva – UFERSA

Co-orientador: Prof. Dr. Caio Augusto Martins Aires - UFERSA

MOSSORÓ - RN
2021

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei n° 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei n° 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

SS586 Silva, Érica Lorenna

a ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO DE GEOPRÓPOLIS DA ABELHA JANDAÍRA (Melipona subnitida Ducke) EM Salmonela sp. ISOLADAS DE CARNE BOVINA E FRANGO. / Érica Lorenna Silva. - 2021.

35 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Jean Berg Alves da Silva Silva.

Coorientador: Prof. Dr. Caio Augusto Martins Aires Aires.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, 2021.

1. Problema de saúde pública. 2. resistência a antibióticos. 3. extrato de geoprópolis.. I. Silva,Prof. Dr. Jean Berg Alves da Silva, orient. II. Aires, Prof. Dr. Caio Augusto Martins Aires, co-orient. III. Título.

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC´s) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

ÉRICA LORENNA BATISTA DA SILVA

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO DE GEOPRÓPOLIS DA ABELHA JANDAÍRA (*Melipona subnitida Ducke)* EM *Salmonela* sp. ISOLADAS DE CARNE BOVINA E FRANGO.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Linha de Pesquisa: Tecnologia de Produtos de Origem Animal.

Defendida em: 25/ 03/ 2021.

BANCA EXAMINADORA

JEAN BERG ALVES DA SILVA:02556429461 Assinado de forma digital por JEAN BERG ALVES DA SILVA:02556429461 Dados: 2021.03.27 06:11:13 -03'00'

Prof. Dr. Jean Berg Alves da Silva (UFERSA)
Presidente

Maria Rociene Abrantes

Profa. Dra Maria Rociene Abrantes (UFERSA)
Membro Examinador

CAIO AUGUSTO MARTINS AIRES:94768242200 Assinado de forma digital por CAIO AUGUSTO MARTINS AIRES:94768242200 Dados: 2021.03.31 10:49:48 -03'00'

Prof. Dr. Caio Augusto Martins Aires (UFERSA)
Membro Examinador

A **Maria de Lourdes Ferreira** (in memorian).

Aos meus pais, Edson Batista e Francinilde Batista e ao meu filho João Arthur Batista Monteiro por todo amor e compreensão durante a caminhada.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por abençoar os meus planos, iluminar o meu caminho em busca dos meus sonhos e por ter sido meu amparo e minha força nos dias difíceis.

Aos meus pais pela compreensão, por me incentivar e me fazer acreditar que tudo daria certo. Pelas tantas vezes que ficaram com o meu filho para que eu pudesse dar o meu melhor.

Ao meu filho, João Arthur, que mesmo tão pequeno me dava forças para continuar, por ter me feito crescer, pois é por ele que busco a cada dia ser uma pessoa melhor.

As minhas tias, que torcem pelo meu crescimento e investem nos meus sonhos, que apoiam todas as minhas decisões, em especial a Francione Ferreira.

Ao pai do meu filho, Acácio Filho, que segurou a minha mão mesmo de longe, que me incentivava através de palavras, que levantava minha cabeça quando os dias pareciam dificeis.

Aos amigos, Joice, Kewen, Bruno, Salenilda, Palloma, Flavio, Leônia que conquistei durante a caminhada e que fizeram meus dias mais leves.

Agradeço ao meu orientador por toda paciência, por me passar calma e tranquilidade nos dias em que eu achava que não iria conseguir.

Ao coorientador Caio Aires, por compartilhar as experiências no laboratório e pela disponibilidade de me ajudar a concluir o meu trabalho.

As professoras Rociene Abrantes e Carolina Mendes pela disposição e ensinamento.

Minha Gratidão!

RESUMO

O proposito desse estudo foi avaliar a atividade antimicrobiana do extrato de geoprópolis da abelha jandaíra *(Melipona subnitida Ducke)* em *Salmonela* sp. isoladas de carne bovina e frango comercializadas no Município de Mossoró/RN como alternativa aos antibióticos. Para a condução dos experimentos as amostras foram adquiridas na forma de consumidor em 30 estabelecimentos espalhados pela cidade. Foram coletadas 60 amostras, sendo 30 de carne bovina (coxão mole) e 30 de frango (peito). Para detecção de *Salmonela* sp. seguiu-se os procedimentos descritos na instrução normativa n° 62 de 2003. Amostras positivas foram submetidas a dois testes, ambos usando o método de difusão a disco. No primeiro, foi avaliada a susceptibilidade aos antimicrobianos de uso clínico e no segundo, as amostras foram submetidas ao extrato de geoprópolis da abelha jandaíra, diluídos em três concentrações diferentes (100%, 75% e 50%) a fim de avaliar o seu potencial antimicrobiano, foram considerados positivos halos ≥ 6 mm. Como resultado obteve-se 18 amostras positivas para *Salmonela* sp., 12 (20%) de frango e 6 (10%) de carne bovina. Na avaliação aos antibióticos de uso clinico os resultados demostraram um índice de resistência de 72% (13/18) a ampicilina, 11% (2/18) a sulfametoxazol/trimetropim, cefoxitina e amoxicilina/ácido clavulânico e 6% (1/18) a cefotaxima. 100% apresentaram-se sensíveis a amicacina, meropenem e clorafenicol, 94% (17/18) a ciproflaxaxino, 89% (16/18) a sulfametoxazol/trimetropim, cefoxitina, cefotaxima e amoxicilina clavulânico, 83% a ceftazidima e cefepima e 28% (5/18) a ampicilina, apresentaram ainda reação intermediária a cefepima e ceftazidima 17% (3/18) e ciprofloxaxino e cefotaxima 6% (1/18). E como resposta ao extrato de geoprópolis, nas diluições de 100% e 75% os halos mediram em média 8mm e em 50% apresentaram medida de 9mm. Conclui-se que há necessidade de mais atenção no controle de qualidade dessas carnes, visto que foi verificado presença de *Salmonela* sp. em 30% (18/60) das amostras analisadas, bem como resistência das mesmas a alguns antibióticos testados. Em contrapartida verificamos que o extrato de geoprópolis apresentou-se como uma alternativa antibacteriana eficaz.

Palavras-chave: Problema de saúde pública. resistência a antibióticos. extrato de geoprópolis.

ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate the antimicrobial activity of the geopropolis extract of the Jandaíra bee (Melipona subnitida Ducke) on Salmonela sp. isolated from beef and chicken sold in the city of Mossoró/RN as an alternative to antibiotics. To conduct the experiments, samples were acquired in the form of a consumer in 30 establishments throughout the city. Sixty samples were collected, 30 of beef (soft drumstick) and 30 of chicken (breast). For detection of Salmonella sp. the procedures described in normative instruction n° 62 of 2003 were followed. Positive samples were submitted to two tests, both using the disk diffusion method. In the first, the susceptibility to antimicrobials for clinical use was evaluated and in the second, the samples were submitted to the extract of geopropolis from the Jandaíra bee, diluted in three different concentrations (100%, 75% and 50%) in order to assess their potential antimicrobial, halos ≥ 6 mm were considered positive. As a result, 18 samples were positive for Salmonella sp., 12 (20%) from chicken and 6 (10%) from beef. In the evaluation of clinical antibiotics, the results showed a resistance index of 72% (13/18) to ampicillin, 11% (2/18) to sulfamethoxazole/trimethoprim, cefoxitin and amoxicillin/clavulanic acid and 6% (1/18)) cefotaxime. 100% were sensitive to amikacin, meropenem and chloraphenicol, 94% (17/18) to ciproflaxaxin, 89% (16/18) to sulfamethoxazole/trimethoprim, cefoxitin, cefotaxime and clavulanic amoxicillin, 83% to ceftazidime and cefepime and 28 % (5/18) to ampicillin, showed an intermediate reaction to cefepime and ceftazidime 17% (3/18) and ciprofloxaxin and cefotaxime 6% (1/18). And as a response to the geopropolis extract, in the dilutions of 100% and 75%, the halos measured an average of 8mm and in 50% they had a measure of 9mm. It is concluded that there is a need for more attention in the quality control of these meats, since the presence of Salmonella sp. in 30% (18/60) of the samples analyzed, as well as their resistance to some antibiotics tested. On the other hand, we verified that the geopropolis extract presented itself as an effective antibacterial alternative.

Keywords: Public health problem. antibiotic resistance. geopropolis extract.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Bairros de Mossoró/RN onde foram coletadas as amostras de carne bovina e frango.....21

Figura 2. Confirmação de presença de *Salmonela* sp. em ureia 22

Figura 3 - Resistência de *Salmonela* sp. a frente ao extrato de geoprópolis da abelha jandaíra (*Melipona subnitida Ducke*.....23

Figura 4 - Resistência de *Salmonela* sp. a antimicrobianos de uso clínico.....24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Relação entre número de amostras analisadas para *Salmonela* sp. durante o período de setembro, outubro e novembro de 2019 e setembro, outubro e novembro de 2020.....25

Tabela 2- Susceptibilidade de 18 cepas de *Salmonela* sp. coletadas de carne bovina e frango frente a 11 antimicrobianos. Mossoró/RN, de setembro, outubro e novembro de 2019 e setembro, outubro e novembro de 2020.....26

Tabela 3 - Susceptibilidade de 18 cepas de *Salmonela* sp. coletadas de carne bovina e frango frente ao extrato de geoprópolis da abelha jandaíra. Mossoró/RN, de setembro, outubro e novembro de 2019 e setembro, outubro e novembro de 2020 28

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMP - Ampicilina

AMC - Amoxicilina/ácido clavulânico

AMI - Amicanina

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ATM - Antimicrobiano

BHI - Brain Heart Infusion Broth

BrCAST - Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

CAZ - Ceftazidima

CDC - Centers for Disease Control and Prevention

CEP - Cefepima

CFO - Cefoxitina

CIP - Ciprofloxacina

CLO - Cloranfenicol

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute

CTX - Cefotaxima

DTA - Doenças Transmitidas por Alimentos

EHG - Extrato hidroalcóolico de geoprópolis

GEN - Gentamicina

IN - Instrução Normativa

LIPOA - Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MER – Meropenem

pH – Potencial Hidrogênionico

RASFF - Sistema de Alerta Rápido para Alimentos e Rações

SINAN - Sistema de Informação de Agravos e Notificações

SUT - Sulfametoxazol/trimethoprim

UFC – Unidade Formadora de Colônia

WHO - World Health Organization

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO 13
2- OBJETIVOS 15
2.1 Objetivo Geral 15
2.2 Objetivo específico 15
3- REFERENCIAL TEÓRICO 16
3.1 *Salmonela* sp. 16
3.2 *Salmonela* sp. e saúde pública 16
3.3 Métodos de detecção se *Salmonela* sp. em alimentos 17
3.4 Resistência antimicrobiana de *Salmonela* sp. 18
3.5 Caracterização do extrato de Geoprópolis 19
4- MATERIAL E MÉTODOS 20
4.1 Coleta das amostras 20
4.2 Análise Microbiológica 21
4.2.1 Detecção de *Salmonela* sp 21
4.3 Teste de susceptibilidade a antibióticos de uso clínico 22
4.4 Efeito do extrato de geoprópolis como agente antibacteriano 23
5- RESULTADOS E DISCUSSÃO 25
5.1 Identificação de *Salmonela* sp. 25
5.2 Teste de susceptibilidade a antibióticos de uso clínico 26
5.3 Efeito do extrato de geoprópolis como agente antibacteriano 27
6- CONCLUSÃO 29
REFERÊNCIA.....30

1- INTRODUÇÃO

As carnes são consideradas um dos alimentos mais importantes da dieta humana além de ter um impacto considerável na economia dos diferentes países (SANS; COMBRIS, 2015).

De acordo com dados da empresa brasileira de pesquisa e agropecuária (Embrapa), entre 2000 e 2020, as exportações de carnes brasileiras renderam US$ 265 bilhões. Em 2020 o Brasil se tornou o maior exportar de carne bovina e de aves do mundo, sendo 2,2 milhões de toneladas, 14,4% do mercado internacional e 4,3 milhões de toneladas, 20,9%, respectivamente (BRASIL, 2021).

Apesar da sua importância econômica e alimentar, a carne é um excelente meio de contaminação por microrganismos patogênicos devido as suas características intrínsecas. Essa contaminação pode ocorrer durante toda sua cadeia produtiva. Lamas *et al*. (2020) citam que no abate pode ocorrer principalmente devido a inadequação no manuseio, ambiente, armazenamento e transporte.

A bactéria *Salmonella sp*. é um dos principais patógenos envolvidos nesses casos de doenças transmitidas por alimentos (DTA´s) (RODRIGUES, 2016). Sendo o frango apontado como a principal causa de doenças, hospitalizações e mortes associadas a surtos dessa bactéria (CDC, 2016).

Essas bactérias são predominantes em animais de produção e podem ser encontrados no intestino de aves, suínos e bovinos e ainda em animais domésticos como cães, gatos, aves e répteis (SILVA, *et al* 2019). Que por sua vez, podem contaminar solo, vegetação, água e alimentos (FARIA, 2016).

Após a ingestão de alimentos contaminados, essas bactérias colonizam o trato intestinal de humanos, penetrarem na barreira epitelial e infectam fagócitos, produzindo uma resposta inflamatória. Esse processo acarreta um aumento de secreção de água e eletrólitos a qual provoca os quadros entéricos (CARVALHO *et al*., 2016).

Os sintomas característicos surgem em torno de 12 a 36 horas após a ingestão do alimento contaminado, sendo os mais comuns: náuseas, vômitos, dores abdominais, cefaleia e diarreias. Podem persistir por 1 a 2 dias, dependendo da dose infectante, além disso, podem ser fatais em lactentes, idosos e enfermos. Em média, a dose infectante se encontra em torno de 10^5 células (CARVALHO, 2012).

Uma opção para o controle dessa enfermidade é o uso de agentes antimicrobianos (ATM) (OLIVEIRA *et al* 2005). A utilização destes aumentou a expectativa e qualidade de

vida da população, entretanto, com o passar do tempo, alguns microrganismos têm desenvolvido resistência à ação de determinados ATM (GUMBO, 2012).

O aumento da resistência antimicrobiana de *Salmonella* sp. tem sido atribuído ao amplo uso de antibióticos, tanto em terapia humana quanto animal. Na pecuária, por exemplo, os antibióticos não são usados apenas para fins terapêuticos, mas também como promotores de crescimento em doses subterapêuticas por longos períodos (JUNOD *et al* 2013).

A preocupação com o aumento da resistência aos antimicrobianos é mundial e abrange tanto a medicina humana quanto a animal (HUR, 2012). As cepas resistentes têm dificultado os procedimentos clínicos e aumentado os custos do tratamento em humanos (LIMA, 2009).

Preeti e colaboradores (2016) apontam que à própolis de abelha tem desepertado interesse de pesquisadores como alternativa antibacteriana devido às suas propriedades farmacológicas e biológicas, essas substâncias apresentam caracteristicas antibacteriana, antifúngica, antiviral e antioxidante.

A própolis é produzida pelas abelhas e são utilizadas na medicina popular desde a antiguidade como agente anti-inflamatorio e antimicrobiano por possuir em sua composição substancias como ácidos fenólicos, flavonoides, terpenos, aldeidos aromaticos e alcoois (SUNG, 2017).

Estudos *in vitro* se mostram bastante eficazes quanto ao efeito antibacteriano da própolis, sendo sua efetivação atribuída aos compostos fenólicos que atuam causando disfunções metabólicas e estruturais na célula bacteriana (ARAUJO; LONGO, 2016).

Para uso na estrutura da colmeia, as Meliponini acrescentam fibras vegetais, sementes e terra à própolis, formando o produto conhecido como geoprópolis. Esse produto apresenta, além dos materiais resinosos e da cera contida na própolis, adição de terra ou barro (CUNHA et al., 2009).

O controle de qualidade da carne bovina e frango é um desafio, pois a sua contaminação pode ocorrer durante toda sua cadeia produtiva, essa contaminação além de causar danos à saúde do consumidor também causa prejuízos financeiros, visto que de acordo com a legislação fica impedida a sua comercialização. Além disso, o aumento da resistência aos antibióticos tem dificultado o controle dessa enfermidade. Assim, objetivamos com o trabalho avaliar a atividade antimicrobiana do extrato de geoprópolis da abelha jandaíra *(Melipona subnitida Ducke)* em *Salmonela* sp. isoladas de carne bovina e frango comercializadas no Município de Mossoró/RN como alternativa aos antibióticos.

2- OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a atividade antimicrobiana do extrato de geoprópolis da abelha jandaíra *(Melipona subnitida Ducke)* em *Salmonela* sp. isoladas de carne bovina e frango comercializadas no Município de Mossoró/RN como alternativa aos antibióticos.

2.2 Objetivo específico

- ✓ Avaliar a qualidade microbiológica de carne bovina e de frango;
- ✓ Isolar e identificar *salmonella sp.;*
- ✓ Detectar o padrão de resistência aos antimicrobianos de uso clínico;
- ✓ Verificar a ação do extrato de geoprópolis da abelha jandaíra (*Melipona subnitida Ducke)* como agente antibacteriano de uso natural.

3- REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 *Salmonela* sp.

Salmonela é a denominação de um gênero de enterobactérias que compreende duas espécies distintas: *S. bongori* com 23 sorovares e *S. entérica* que dispõe de várias espécies e sorotipos. São pequenos bastonetes Gram-negativos, medindo de 1 a 2 µm, não formadores de esporos, anaeróbio facultativo, móveis em sua grande maioria, com flagelos peritríquios. São capazes de formar ácido e, na maioria das vezes, gás a partir da glicose, com exceção de *S. typhi, S. pullorum* e *S. gallinarum* (ASSIS, 2014).

As diferentes espécies não resistem a pH superior a 9,0 ou inferior a 4,0, não podem se multiplicar em temperaturas abaixo dos 5ºC ou acima de 47°C, sendo 38°C a temperatura ideal de multiplicação, podendo ser eliminada a 60ºC.(ASSIS, 2014).

A espécie entérica é dividida em seis subespécies: *S. enterica, S. salamae, S .arizonae, S. diarizonae, S. houtenae* e a S. *indica*. Onde a subespécie entérica, da espécie entérica é considerada a mais relevante para saúde pública, por suas cepas estarem associadas ao maior número de doenças transmitidas por alimentos a humanos (Brooks *et al*., 2014).

Brooks *et al* (2014) relata a existência de quatro sorotipos causadores de doenças: *S. paratyphi, S. paratyphi B* (sorogrupo B), *S. choleraesuis* (sorogrupo C1) e a *S. tiphy* (sorogrupo D). Essas doenças são classificadas em febre tifóide (*S. typhi*), febres entéricas (*S. paratyphi*) e as enterocolites (demais *Salmonellas*) (RODRIGUES, 2016).

As espécies de *Salmonelas* provocam infecções a partir da invasão de células da mucosa intestinal. Os sintomas surgem de 12 a 36 horas após o contato com o microrganismo, dentre eles estão à diarreia, febre, dores abdominais e vômitos (ASSIS, 2014).

A dose infectante varia de acordo com o hospedeiro e as diferentes espécies geram diferentes doenças. A *S. typhi,* é responsável pela febre tifoide, a *S. paratyphi* geram febres entéricas e as outras espécies são associadas a enterocolites. (ASSIS, 2014).

A transmissão dessa bactéria a humanos acontece por via oral-fecal, ingestão de alimentos ou água contaminado e seu controle depende muito da ação humana, levando em consideração que o homem pode ser disseminador dessa bactéria (SILVA, *et al* 2019).

3.2 *Salmonela* sp. e saúde pública

A salmoneloses é apontada como a doença de origem alimentar de maior impacto na saúde pública, devido à alta endemicidade, morbidade e dificuldade no controle dessa doença. Por apresentar sintomas comuns a outras doenças muitas vezes são mal diagnosticadas, o que compromete o sistema de saúde (SILVA *et al.*, 2019).

Garcia e Duarte (2014) apontam que nos Estados Unidos até o ano de 2014 foram registrados pelo menos 76 milhões de episódios de intoxicação alimentar, acarretando 325 mil hospitalizações e cinco mil mortes, destacando-se a *Salmonela, Listeriose e Toxoplasmose* principais agentes responsáveis.

De acordo com Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), são notificados, em torno de 700 surtos, com uma média de 13 mil doentes e 10 óbitos, por ano, no país. A região brasileira mais acometida é a Sudeste, seguida de Sul, Nordeste, Centro-Oeste e Norte. Sendo a contaminação em residências os maiores casos notificados (BRASIL, 2019).

Apesar desses registros, sua incidência real não é precisa, uma vez que frequentemente pequenos eventos não são relatados (OLIVEIRA, 2012).

Um trabalho realizado por Welker *et al*. (2010) que analisaram 186 surtos de doenças veiculadas por alimentos, apontou a *salmonela* sp. como o principal microrganismo responsável pela transmissão de doenças aos seres humanos (37%), os autores verificaram também que os produtos cárneos foram os principais envolvidos.

O crescente aumento das populações, a existência de grupos populacionais vulneráveis, a urbanização desordenada e a necessidade de produzir alimentos em larga escala associadas a condições de saneamento ineficientes, má qualidade da água, higiene pessoal inadequada e somada à falha no controle dos órgãos públicos e privada, estão entre as principais causas que contribuem para o aumento de DTAs (BRASIL, 2019).

Outro agravante que contribui para esse problema de saúde pública é o fato de a bactéria sobreviver por longos períodos no meio ambiente através das fezes contaminadas (BRASIL, 2011). Existem registros dessas bactérias resistindo por mais de 28 meses em fezes de aves e, até 30 meses, em estrume bovino, 280 dias no solo cultivado e 120 dias na pastagem, sendo ainda encontrada em efluentes de água de esgoto (CARVALHO, 2012).

3.3 Métodos de detecção se *Salmonela* sp. em alimentos

O teste para detecção de *Salmonela* sp. é baseado em métodos culturais clássicos, considerados sensíveis e confiáveis, que dependem de uma sequência complexa de etapas e requer vários dias para obtenção do resultado (ANDREWS et al, 2016).

De acordo com Melo *et al*. (2018) existem 126 kits comerciais que aplicam diferentes técnicas de detecção. Sendo em sua maioria, baseado em técnicas moleculares, seguidos pelos ensaios imunológicos e outros baseados em métodos culturais combinados com técnicas bioquímicas ou imunológicas. Os ensaios imunológicos são comparativamente mais rápidos e mais específicos do que os métodos convencionais.

A metodologia convencional recomendada por diferentes órgãos regulamentadores segue basicamente quatro etapas, são elas: pré-enriquecimento, enriquecimento em meio seletivo, isolamento em meio seletivo e identificação presuntiva (BRASIL, 2011).

Almeida *et al*. (2018) analisaram duas amostras de carnes *in natura* resfriada, duas de charque, duas de mortadela, duas de salsichão e 14 de linguiça fresca, de acordo com as normas vigentes no Brasil. No método convencional não foram detectadas amostras positivas, enquanto na PCR, das 22 amostras, 13 foram positivas. Com isso, concluíram que os resultados obtidos com a PCR foram superiores ao método microbiológico convencional para detecção de *Salmonela sp*. em produtos cárneos.

Segundo Melo *et al*. (2018) o desenvolvimento de métodos alternativos para detecção de *Salmonela* sp. tem grande importância tanto para a segurança dos consumidores quanto para a saúde pública.

3.4 Resistência antimicrobiana de *Salmonela* sp.

Os antibióticos são uma classe de fármacos utilizados para o tratamento de doenças infecciosas, que diferem entre si quanto as suas propriedades físicas, químicas, farmacológicas e em seu mecanismo de ação (BAPTISTA, 2013).

Tortora *et al.* (2011) explicam que são basicamente cinco modos de ação dos antimicrobianos: inibição da síntese de ácido nucléico; inibição da síntese de metabólitos essenciais; danos à membrana plasmática; inibição da síntese proteica pelas e por último, inibição da síntese da parede celular.

O uso de antimicrobianos como terapêuticos tem um importante papel na prevenção da disseminação das DTAs. Entretanto, com a aplicação rotineira observou-se que diversos microrganismos têm se tornado cada vez mais resistentes a esses antibióticos de grande

importância na medicina veterinária e humana, dentre eles destaca-se a *Salmonela* sp. (COLLA *et al*., 2014).

O Ministério da Saúde alerta que o uso indiscriminado de antibióticos tem gerado resistência e causado em torno de 700 mil mortes cada ano em todo o mundo. Segundo a OMS, caso esse quadro permaneça em 2050 serão 10 milhões de mortes por ano (TOKARNIA, 2019). A WHO (2018) recomenda o uso do antibiótico apenas quando necessário.

Segundo Hawkey e Jones (2009), os principais mecanismos de resistência bacteriana aos antibióticos são: a modificação ou destruição enzimática do antibiótico; a prevenção da acumulação intracelular do antibiótico através da redução da permeabilidade celular ao antibiótico; as alterações nas moléculas alvo dos antibióticos e a produção de moléculas alvo alternativo que não são inibidas pelo antibiótico.

Alguns antimicrobianos são utilizados como promotores de crescimento. No Brasil são autorizados para este fim as substâncias: avilamicina, bacitracina, bacitracina de zinco, colistina, clorexidina, enramicina, flavomicina, halquinol, lasalocida, lincomicina, monensina, narasina, ractopamina, salinomicina, tiamulina, tilosina, virginiamicina e zilpaterol (BRASIL, 2015).

Segundo Santana *et al*. (2011) a comunidade europeia preocupada com a utilização de antimicrobianos para uso não terapêutico, excluiu o uso em todo território, isso fez com que o Brasil e os Estados Unidos reduzissem drasticamente o uso dessas drogas.

Shinohara *et al*. (2008) recomendam o tratamento com antibacterianos em salmoneloses apenas quando diagnosticada a febre tifoide ou a febre entérica. Os autores enfatizam ainda, que o tratamento deve ser mantido pelo menos uma semana após os sintomas para que possa atingir a bactéria em sua localização intracelular.

No ano de 2017, O CDC investigou um surto de infecção causado pela *S. heidelberg*, e os resultados apresentados demostraram que isolados clínicos de pessoas doentes eram resistentes a múltiplos antibióticos. Segundo estudos realizados por Yan *et al*. (2003) *S. typhimurium* e *S. newport* são sorotipos de que têm apresentado cepas multirresistentes.

3.5 Caracterização do extrato de Geoprópolis

A própolis de abelhas sem ferrão é o produto oriundo de substâncias resinosas, gomosas e balsâmicas, colhidas pelas abelhas sem ferrão de brotos, de flores e de exsudatos

de plantas, nas quais as abelhas acrescentam secreções salivares, cera e pólen para a elaboração final do produto (RIISPOA, 2020).

Nativa da caatinga nordestina tem como característica adicionar terra ou barro a própolis, formando a geoprópolis (SOUZA, *et al*. 2015).

Segundo Filho *et al*. (2017) a geoprópolis da abelha jandaíra tem uma composição complexa, constituída por resina vegetal, óleos essenciais, pólen, cera, açucares e terra e/ou barro, a qual associa-se a numerosas atividades farmacológicas.

Araújo *et al*. (2015) citam que sua composição pode variar dependendo da flora e do local onde é coletada. Um estudo realizado pelo autor no Maranhão com geoprópolis produzida por *Melipona fasciculata Smith*, revelou que em sua composição podem ser encontradas além de substancias como carboidratos e seus derivados, triterpenos, ácido anacárdico, alquilresorcinóis e álcoois de açúcar. As hexoses, dissacarídeos, ácidos glucurônico, pentoses, lupeol, β-amirina, cetona triterpênica, α-amirina, ácidos salicílicos e isômeros, resorcinóis, xilitol, glucitol, inositol, glicerina, ácido metilmalônico, entre outros.

Atualmente, em várias partes do mundo, a própolis é comercializada pela indústria farmacêutica como composto da medicina alternativa, a qual é utilizada como complemento alimentar e/ou medicamento (SANTOS, 2019)

4- MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Coleta das amostras

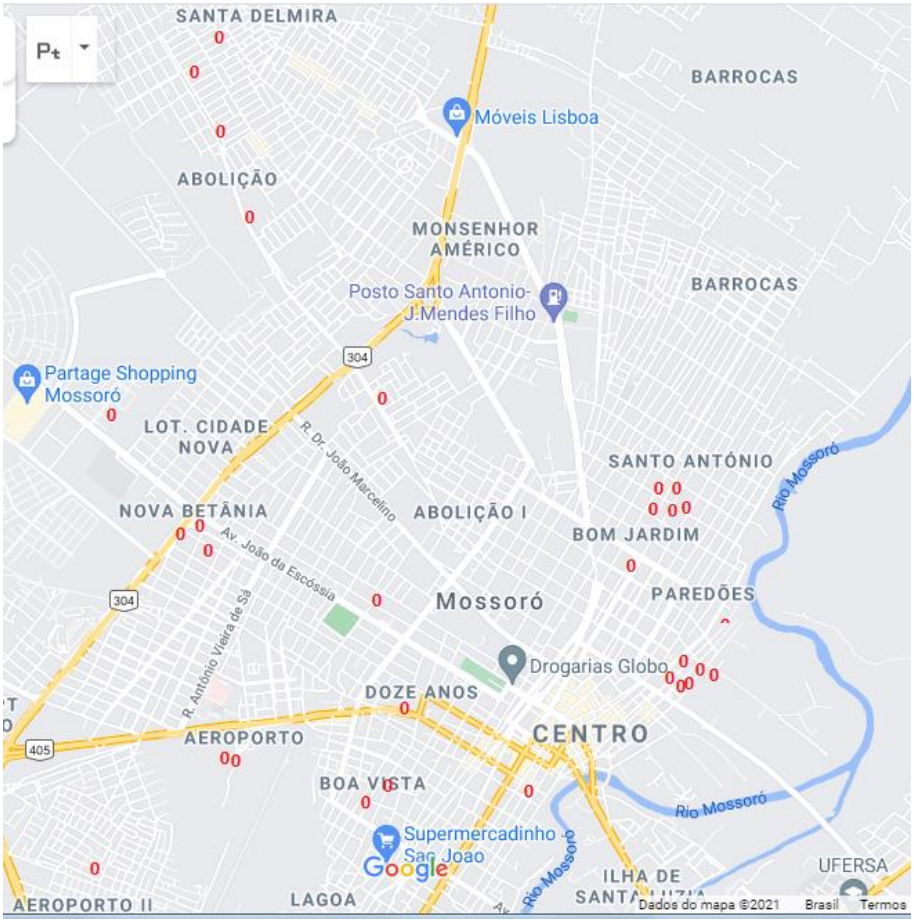
As amostras de carne bovina e de frango foram adquiridas de 30 açougues (supermercado, mercadinhos e mercado público), localizados no município de Mossoró (**Figura 1**), na forma de consumidor.

Foram obtidas duas amostras (carne de frango e carne bovina) por açougue, totalizando 60 amostras avaliadas, sendo 30 de carne bovina (coxão mole) e 30 de frango (Peito).

As coletas aconteceram pela manhã nos meses de setembro, outubro e novembro de 2019 e nos mesmos meses de 2020.

Após a compra as amostras eram acondicionadas e transportadas em caixa isotérmicas, na embalagem do próprio estabelecimento, até o Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal – LIPOA, da Universidade Federal Rural do Semiárido – UFERSA, Mossoró – RN onde o experimento foi conduzido.

Figura 1. Bairros de Mossoró/RN onde foram coletadas as amostras de carne bovina e frango.



Fonte: Própria (2020)

4.2 Análise Microbiológica

4.2.1 Detecção de *Salmonela* sp.

Para detecção de *Salmonela* sp. das amostras de carne bovina e frango, seguiu-se a Instrução Normativa Nº 30 de 2018.

As amostras foram pesadas em 25g e transferidas para sacos plásticos estéreis, acrescidos com 225 mL de água peptonada tamponada estéril e posteriormente homogeneizados em “Stomacher” por 2 minutos, em seguida foram transferidas para um Erlenmeyer (balão) e incubadas em estufa bacteriológica a 36 °C. Após 16 a 20 h, alíquotas de 1 mL destas diluições foram transferidas para dois diferentes caldos de enriquecimento: Selenite Cistine e Tetrationato, e 0,1 mL para caldo Rappaport incubados por 24 h à 41 °C.

Posteriormente as colônias foram semeadas em placas de petri com ágar *Salmonela – Shigella* (SS) e ágar Rambach, incubadas invertidas a 36 °C por 24 h. As colônias típicas obtidas nas placas foram testadas nos meios ágar Lisina Ferro (LIA) e ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI). Em seguida, as amostras positivas foram submetidas à incubação em ágar Ureia. O resultado foi interpretado de acordo com a coloração do tubo, que foi considerada positiva quando a coloração permaneceu inalterada (amarelo) (**Figura 2**).

Os resultados tiveram como base a Instrução Normativa nº 60 de 2019 que define como parâmetro de qualidade microbiológica da carne *in natura*, a ausência de *Salmonela* sp. em 25 gramas de amostra (BRASIL, 2019).

Figura 2. Confirmação de presença de *Salmonela* sp. em Ágar Ureia

.

Fonte Própria (2020)

4.3 Teste de susceptibilidade a antibióticos de uso clínico

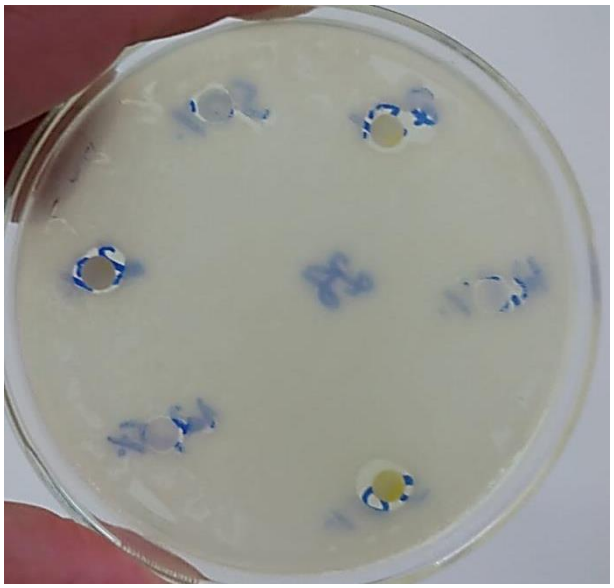
Os testes de susceptibilidade a antimicrobianos foram realizados através do método padrão Kirby-Bauer de disco-difusão em meio Ágar Mueller-Hilton, segundo recomendações da BrCAST- Brazilian committee on antimicrobial suceptility testing (2020).

Os antibióticos testados foram Ampicilina 10 µg (AMP), Ciprofloxacino 5µg (CIP), Amicacina 30µg (AMI), Meropenem 10 µg (MER), sulfametoxazol/trimetoprim 23,75 – 1,25µg (SUT), Cloranfenicol 30µg (CLO), Cefoxitina 30µg (CFO), Amoxicilina/ácido

clavulânico 20 - 10 µg (AMC), Cefotaxima 5µg (CTX), Ceftazidima 10 µg (CAZ) e Cefepima 30µg (CEP).

As colônias foram repicadas em tubos contendo BHI caldo e transferidos para um tubo contendo 4 mL de solução salina. Os tubos foram agitados até alcançar a turbidez de uma solução padrão de McFarland 0,5 com uma suspensão bacteriana com aproximadamente 10^8 UFC/mL. Obtida a turbidez utilizou-se um *swab* estéril, que foi umedecido na solução salina, pressionando contra as paredes do tubo para remover o excesso de líquido e semeado sobre a superfície da placa de Petri contendo ágar Müeller-Hinton. Com o auxílio de pinça estéril foram acrescentados discos de antibióticos, após essa etapa e as placas eram incubadas invertidas a 36±1ºC durante 16-18 horas. Após esse período, procedeu-se a leitura dos halos com o auxílio de uma régua e os resultados foram classificados de acordo com o diâmetro formado (**Figura 3**), a amostra foi classificada em sensível, intermediária ou resistente de acordo com o BRCAST (2020).

Figura 3 - Resistência de *Salmonela* sp. a frente ao extrato de geoprópolis da abelha jandaíra (*Melipona subnitida Ducke.*



Fonte Própria (2020)

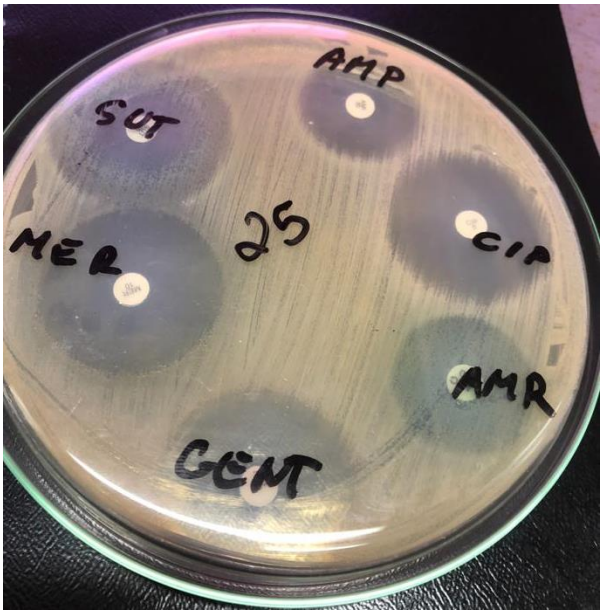
4.4 Efeito do extrato de geoprópolis como agente antibacteriano

O ajuste da turvação da suspensão bacteriana foi realizado utilizando a solução padrão 0,5 da escala de McFarland.

A geoprópolis bruta (30g) da abelha jandaíra (*Melipona Subnitida*) foi fornecida por um apicultor, cujo meliponário localiza-se no bairro alto de São Manoel, zona urbana do município Mossoró/RN. Em seguida levada ao LIPOA onde foi submetida à pré-limpeza para retirada de eventuais impurezas e macerada utilizando almofariz e pistilo. Utilizou-se 30 g própolis, sendo fragmentadas e acondicionadas em vidro âmbar com capacidade de 100 mL, e o volume completado com 70 mL de álcool etílico de cereais (álcool etílico de arroz) 70%. A solução obtida foi homogeneizada por um minuto, a cada 12 horas, durante 30 dias, depois filtrada e armazenada sobre refrigeração. Os extratos hidroetanólicos de geoprópolis obtidos foram fracionados em três diluições (100%, 75%, e 50%) e foram utilizados posteriormente (SILVA, 2003).

A avaliação do potencial da atividade antimicrobiana do extrato de geoprópolis foi realizada através do método de difusão a disco em meio ágar Müller-Hinton. Com o auxílio de pinça estéril foram acrescentados os discos contendo as três concentrações do extrato em placas de petri e incubadas invertidas a 36±1ºC em estufa bacteriológica por 24 horas. Após esse período, procedeu-se a leitura dos halos (**Figura 4**), utilizando como referência ≥ 6 mm como atividade inibitória de acordo com BONA et al., (2014).

Figura 4 - Resistência de *Salmonela* sp. a antimicrobianos de uso clínico.



Fonte Própria (2020)

5- RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Identificação de *Salmonela* sp.

O presente estudo ao avaliar 60 amostras de carne bovina e frango, obteve-se como resultado o total de 18 (30%) amostras positivas para *Salmonela* sp. onde 12 (20%) foi de frango e 6 (10%) de carne bovina, como mostra a **Tabela 1**. Podemos perceber que as carnes de aves apresentaram o dobro de amostras positivas em relação à carne bovina, além de uma porcentagem significativa em relação à quantidade de amostras, visto que essas bactérias são consideradas um problema de saúde pública.

Tabela 1 – Relação entre número de amostras analisadas para *Salmonela* sp. durante o período de setembro, outubro e novembro de 2019 e setembro, outubro e novembro de 2020.

Nº de amostras analisadas	Nº de amostras positivas	Porcentagem de amostras Positivas
60	18	30%

Fonte: Própria (2020)

Esses resultados concordam com outros estudos presentes na literatura onde as carnes de aves ganham destaque como produto de origem animal com maior incidência de contaminação por Salmonela. Fortini *et al.* (2018) analisou duas amostras de coxa, sobrecoxa e duas de coxinha da asa, em frangos comercializados em diferentes estabelecimentos em Dourado – MS e identificou a presença de *Salmonela* sp. em 100% das amostras.

Chagas *et al*. (2017) investigaram presença de *salmonella sp*. em produtos cárneos de matadouros frigoríficos no Estado do Pará, provenientes de 8 estabelecimentos, a análise microbiológica revelou ausência da bactéria em todas as amostras.

Considerando que a principal via de transmissão de *Salmonela* sp. está condicionada a alimentação e sua incidência em animais criados com objetivo comercial é elevada. Isso tem ocasionado altas perdas financeiras para a indústria, o que tem tornado o controle de qualidade mais rigoroso (BRASIL, 2011).

Os resultados em relação à ausência ou presença de *Salmonela* sp. variam entre os estudos. Entretanto, as causas estão associadas a condições precárias de higiene. Segundo Pagano e Caetano (2019), os principais locais de ocorrência são as residências (34%), eventos (19%) e restaurantes a padarias (17%) e dentre os principais agentes envolvidos está a *Salmonela* sp. em primeiro lugar, seguido pela *E. coli* e *S. aureus* (BRASIL, 2017).

A identificação precoce de microrganismos patogenicos na carne bovina durante o abate contribui para implementação de programas de monitoramento de qualidade e consequentemente reduz os riscos a saúde pública (MARTINEZ et al. 2015).

5.2 Teste de susceptibilidade a antibióticos de uso clínico

Na avaliação do perfil de susceptibilidade antimicrobiana, diferentes métodos podem ser utilizados, os mais conhecidos são os de disco-difusão (Figura 3), macro diluição e micro diluição em caldo e métodos rápidos automatizados (BONA et al., 2014). Os resultados que se seguem (**Tabela 2**) foram identificados por método de disco-difusão em ágar.

Tabela 2- Susceptibilidade de 18 cepas de *Salmonela* sp. coletadas de carne bovina e frango frente a 11 antimicrobianos. Mossoró/RN, de setembro, outubro e novembro de 2019 e setembro, outubro e novembro de 2020.

Antimicrobianos	**Número de Amostras**		
	Resistente	Sensível	Intermediário
Ampicilina	13	5	-
Sulfametoxazol/trimetropim	2	16	-
Cefoxitina	2	16	1
Amoxicilina/ácido clavulânico	2	16	-
Cefotaxima	1	16	-
Amicacina	-	18	-
Meropenem	-	18	-
Clorafenicol	-	18	-
Ciprofloxacino	-	17	1
Ceftazidima	-	15	3
Cefepima	-	15	3

Fonte: Própria (2020)

Os resultados demostraram um índice de resistência de 72% (13/18) a ampicilina, 11% (2/18) a sulfametoxazol/trimetropim, cefoxitina e amoxicilina/ácido clavulânico e 6% (1/18) a cefotaxima. Em relação à sensibilidade 100% das cepas apresentaram-se sensíveis a amicacina, meropenem, e cloranfenicol, 94% (17/18) a ciprofloxacino, 89% (16/18) a sulfametoxazol/trimetropim, cefoxitina, cefotaxima e amoxicilina/ácido clavulânico, 83% (15/18) a ceftazidima e cefepima e 28% (5/18) a ampicilina. Sendo considerados antibióticos com reação intermediaria cefepima e ceftazidima 17% (3/18) e 6% (1/18) ciprofloxacino e cefotaxima.

As cepas resistentes têm dificultado os procedimentos clínicos e aumentado os custos do tratamento em humanos (LIMA, 2009).

O estudo divergiu dos resultados encontrados por Ribeiro (2018) que ao avaliar 14 cepas de *S. heidelberg*, sendo três isoladas de material clínico de humanos e 11 isoladas de alimentos, apresentaram-se 100% resistentes ao meropenen.

Maciel *et al*. (2019) investigaram a resistência a antibióticos em *Salmonela* sp. isoladas de 134 produtos de origem animal (suínos e aves) e verificou que os isolados eram resistentes 76% (39) a amoxicilina, 67% (35) a ampicilina, 45% (23) a gentamicina, 76% (39) a tetraciclina e 12% (6) a sulfametoxazol/trimetoprim. No estudo em questão os resultados apresentam concordância quanto à ampicilina e o sulfametoxazol/trimetropim, tendo o segundo medicamento um índice mais baixo de resistência nos dois casos.

Um estudo realizado por Hao *et al*. (2012) sobre a resistência de *Salmonela* sp. a antibioticos em animais (aves e suínos) destinados ao consumo humano na região do Sudeste Asiático apresentou como resultado, resistencia à ampicilina, tetraciclina e sulfametazina.

Uma opção para o controle dessa enfermidade é o uso de agentes antimicrobianos (OLIVEIRA *et al.,* 2005). Esse tratamento reduziu as taxas de morbidade e mortalidade associadas a infecções bacterianas, em contrapartida, o mau uso tem acelerado o processo natural de resistência das bactérias (COSTA; JUNIOR, 2017).

Essa resistência representa um risco à qualidade de vida humana, compromete o orçamento do sistema de saúde, tanto público como privado, além de intensificar as infecções hospitalares, outro problema de saúde pública (COSTA; JUNIOR, 2017). Com isso a busca por novos antibióticos torna-se uma necessidade emergente (ARAUJO, 2015).

5.3 Efeito do extrato de geoprópolis como agente antibacteriano

De acordo com os resultados obtidos, considerando atividade inibitória em halos com diâmetro ≥ 6 mm (BONA et al., 2014) pode-se considerar que todos os extratos apresentaram respostas satisfatórias, sendo o extrato de diluição 50% o mais eficiente, como podemos observar na **Tabela 3**.

Tabela 3 - Susceptibilidade de 18 cepas de *Salmonela* sp. coletadas de carne bovina e frango frente ao extrato de geoprópolis da abelha jandaíra. Mossoró/RN, de setembro, outubro e novembro de 2019 e setembro, outubro e novembro de 2020.

Diluições	Média dos halos
100%	8 mm
75%	8 mm
50%	9 mm

Fonte: Própria (2020)

Filho *et al.* (2017) analisaram comparativamente 12 diferentes amostras de geoprópolis, quanto a sua atividade antibacteriana, antioxidante e teor de flavonóides. A geoprópolis produzida por abelhas *melipona subnitida* apresentou atividade antimicrobiana frente às cepas testadas, assim como boa atividade de radicais livres.

Silva *et al*. (2016) em seu estudo objetivou avaliar a composição química e o potencial terapêutico do extrato de geoprópolis e os resultados foram considerados satisfatórios em relação à atividade antibacteriana, das oito amostras, cinco obtiveram formação de halos de inibição ≥ 9mm em todas as cepas testadas, apresentando resultados semelhantes ao presente estudo.

Segundo Abubakar *et al*. (2014) as bactérias Gram negativas possuem estrutura da parede celular menos rígida em relação as Gram positivas porém são quimicamente mais complexas e com maior teor lipídico o que pode lhe conferir maior resistência ao própolis. Entretanto a resposta satisfatória pode ser atribuída ao fato da própolis atuar diretamente na parede celular das bactérias, modificando a permeabilidade da membrana citoplasmática aos íons, sendo necessário que a célula utilize de outros artifícios para manter a síntese de ATP.

Souza *et al*. (2015) associou à atividade antibacteriana do extrato hidroalcóolico de geoprópolis (EHG) da abelha jandaíra em bactérias Gram negativas e Gram positivas ao alto teor de compostos fenólicos totais e potencial atividade anti-radicalar, além da presença de

taninos hidrolisáveis, flavonoides das classes das flavonas e flavonóis, xantonas e triterpenos pentacíclicos livres.

Em relação aos resultados encontrados, vale salientar que não foi apresentada resistência a nenhuma das diluições testadas, apresentando-se como alternativa de boa efetividade, levando em consideração a resistência apresentada aos antibióticos.

6- CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos nesta pesquisa podemos verificar uma alta contaminação por *Salmonela* sp. em carne bovina e frango comercializados em Mossoró/RN, fazendo-se necessário um melhor controle de qualidade desses produtos. Além disso, essas bactérias apresentaram resistência aos antibióticos de uso na clinico como ampicilina, sulfatomaxazol/ trimetropim, cefoxitina, amoxicilina/ ácido clavulânico e cefotaxima. Em contrapartida verificamos que o extrato de geoprópolis apresentou-se como uma alternativa natural antibacteriana eficaz.

REFERÊNCIAS

ABUBAKAR MB, ABDULLAH WZ, SULAIMAN SA, ANG BS. Polyphenols as Key Players for the Antileukaemic Effects of Propolis. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**. 2014:11

ANDREWS, W. H.; WANG, H.; JACOBSON, A.; HAMMACK, T. S. Salmonella. In: FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Bacteriological Analytical Manual (BAM). **FDA** 2016.

ALMEIDA, C. B; RAMOS, C. A. N; ABDO, M. A.G. S; FRANCO, M. L; GALHARDO, J.A. Comparative analysis between conventional microbiological isolation and PCR for detection of Salmonella spp. in meat products. **Hig. Alimenta.** 32(282/283): 91-96, jul.-ago. 2018.

ARAUJO, M. M. D.; LONGO, P. L.(2016) Teste da ação antibacteriana in vitro de óleo essencial comercial de Origanum vulgare (orégano) diante das cepas de Escherichia coli e Staphylococcus aureus. **Arquivos do Instituto Biológico**, 83.

ARAÚJO, M. J. A. M.; BÚFALO, M. C.; CONTI, B.J.; FERNANDES JR, A.; TRUSHEVA, B.; BANKOVA, V.; SFORCIN, J.M. (2015) The chemical composition and pharmacological activities of geopropolis produced by Melipona fasciculata Smith in Northeast Brazil. **Journal of Molecular Pathophysiology**, v. 4, p.12-20, 2015.

ASSIS, Luana. Principais Microorganismos envolvidos em DVA. Alimentos Seguros: Ferramenta para gestão e controle da produção e distribuição**. Senac Nacional**, Rio de Janeiro, v.2, n. 2, 2014

BAPTISTA, M. G. F. M. Mecanismos de Resistência aos Antibióticos. 2013. Monografia (Dissertação de Mestrado) - Curso de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, **Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologia**, Lisboa.

BRASIL. Agencia Nacional de Vigilância Sanitáfria (ANVISA). Instrução Normativa nº 60 de 23 de dezembro de 2019, Estabelece listas de padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da União de 26/12/2019

BRASIL. Ministério da Saúde. Manual técnico de diagnóstico laboratorial de Salmonella spp. Fundação Oswaldo Cruz. Laboratório de Referência Nacional de Enteroinfecções Bacterianas, Instituto Adolfo Lutz. – Brasília : Ministério da Saúde, 2011. 60 p.

BRASIL. Ministério da saúde. Doenças transmitidas por alimentos: causas, sintomas, tratamento e prevenção. 2017 Disponível em: https://antigo.saude.gov.br/saude-de-a-z/doencas-transmitidas-por-alimentos. Acesso em: 04/03/2021

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). Aditivos melhoradores de desempenho e anticoccidianos registrados na CPAA/DFIP. 25 de abril de 2015.
Disponível em < http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/arquivos-

deinsumospecuarios/ADITIVOSAUTORIZADOSCOMOMDeANTICOCCIDIANOS201525 abrilPortalMAPA.pdf > Acesso em: Dezembro de 2020

BRASIL. Ministério da Saúde. *Salmonella* (Salmonelose): o que é, causas, tratamento e prevenção. 2019. Disponível em: https://saude.gov.br/saude-de-a-z/Salmonella. Acesso em: 22 de setembro de 2020.

BRASIL. Secretaria de Inteligência e Relações Estratégicas (Sire). Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária (EMBRAPA). O Agro no Brasil e no Mundo: uma síntese do período de 2000 a 2020. Brasil, 2021.
Disponível em: https://agronews.tv.br/confira-a-evolucao-do-setor-de-carnes-no-brasil-nos-ultimos-20-anos/ Acesso em: 22/06/2021

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017. Regulamenta a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal, que disciplina a fiscalização e a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal, Brasília, DF, 2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa nº 30 de 26/06/2018, Oficializar os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Diário Oficial da União 26/06/2018

BrCAST. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Tabelas de pontos de corte para interpretação de CIMs e diâmetros de halos. 2020. Disponível em: file:///C:/Users/Cliente/Downloads/Tabela-pontos-de-corte-clinicos-BrCAST-2020-V2-20-maio-2020%20(4)%20(2).pdf. Acesso em: Dezembro de 2020

BONA, E. A. M.; PINTO, F. G. S.; FRUET, T. K.; JORGE, T. C. M.; MOURA, A. C.(2014) Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. **Arquivos do Instituto Biológico,** v. 81, n. 3, p. 218-225, 2014.

BROOKS, G. F, CARROLL, K. C., BUTEL, J. S., MORSE, S. A., & MIETZNER, T. A. (2014). Microbiologia Médica de Jawetz, Melnick & Adelberg - 26.ed. **AMGH Editora**.

CARVALHO, F. C. T. Salmonella spp. e. Escherichia coliem ambientes de cultivo de camarão (Litopenaeusvannamei) no Estado do Ceará. Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará**,** Instituto de Ciências do Mar, **Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais**, Fortaleza, 2012

CARVALHO, C. G. M; GUEDES, M I. F; BAIA, I. L. MALAGA, S. M. R; OLIVEIRA, T.R. Detection of Salmonella spp through polymerase chain reaction (PCR) on eggs commercialized in Fortaleza, Ceará. **Nutrivisa – Revista de Nutrição e Vigilância em Saúde**. V. 2-N. 3; p. 113-118, 2016

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks United States, 2016. Annual report. Disponível em:. https://www.cdc.gov/fdoss/pdf/2 016_foodborneoutbreaks_508.pdf?deliveryname5dm9453. Acesso em: 10/11/2020

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). FoodNet 2018 Disponível em: https://www.cdc.gov/foodnet/reports/prelim-data-intro-2018.html. Acesso em: Dezembro de 2020.

CHAGAS, V. P. S; SANTOS, C. R; REIS, W. C. S; SANTOS, A. B. P; BEZERRA, M. P. F; SEIXAS, V. N.C. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Anima**, v. 11, n. 1, p. 1–7, jan-mar, 2017.

COLLA, F. L; MION, L; PARIZZOTO; SANTOS L.A; PILOTTO, L; RODRIGUES, L.B; NASCIMENTO, V.P; SANTOS, L.R . (2014). Perfil de sensibilidade aos antimicrobianos e eficácia de sanitizantes frente aos isolados de Salmonella spp. oriundos de carcaças suínas no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, *34*(4), 320-324

COSTA, A. L.P; JUNIOR, A.C.S.S. (2017). Resistência bacteriana aos antibióticos e saúde pública: uma breve revisão de literatura. Estação Científica (UNIFAP). Macapá, v. 7, n. 2, p. 45-57, maio/ago. 2017.

CUNHA, M. S.; DUTRAS, R. P.; BATISTA, M. C. A. (2009). Padronização de extrativos de geoprópolis de Melipona fasciculata Smith (tíuba). **Cadernos de Pesquisa – UFMA**, v. 6, p.31-8, 2009.

FARIA, A. M. Escherichia coli E Salmonella sp. Em suiformes nativos eexóticos assintomáticos em criações comerciais do estado de goiás. Tese (Doutorado)- **Universidade Federal de Goiás.** GOIÂNIA, 2016.

FILHO. F. A. S; CALDAS, F, R, L; MENDES, R. C. (2017). Atividades Antimicrobiana E Antioxidante De Extratos De Geoprópolis De Abelhas Melipona Subnitida (Jandaíra) DEPARTAMENTO DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO **Seminário de Iniciação Científica** 2017 IFC- Campos juazeiro do Norte.

FORTINI C. S; VERISSIMO, E. C; MELO I. C; LAGO J. K. M; JUNIOR, M. A. Análise Microbiológica De Salmonella sp em Amostras De Carne De Gallus Gallus Domesticus Comercializados Em Estabelecimentos De Dourados-Ms. Sistema Eletrônico De Administração De Eventos Da Ufgd, V. 2 N. 2: Xi **Simpósio E Iv Semana Acadêmica De Nutrição Da Ufgd** Edição Atual - V. 1, N. 1 - 2018

GARCIA. D. P.; DUARTE, D. A. Epidemiological profile outbreaks of foodborne illness occurred in **Brazil.Revista Eletrônica** Acervo Saúde. 2014 Vol.6 (1), 545-554.

GUMBO T. Princípios gerais do tratamento antimicrobiano. in: Brunton LL, Chabner BA, Knollmann BC. As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman & Gilman. Porto Alegre: **AMGH**. 2012;12:1365-1381.

HAWKEY, P. M; JONES, A.M. The changing epidemiology of resistance. **J Antimicrob Chemother**., 64 (Suppl 1) (2009), pp. i3-i10

HAO T, HOANG K, SMOOKER P, COLOE P. The antibiotic resistance characteristics of non-typhoidal Salmonella enterica isolated from food-producing animals, retail meat and humans in South East Asia. **International Journal of Food Microbiology**. 2012; 154(4): 90-106.

HUR J, JAWALE C, LEE JH. Antimicrobial resistance of Salmonella isolated from food animals: A review. **Food Res Inter**. 2012;45(2):819-30.

JUNOD T, LÓPEZ-MARTIN J, GÄDICKE P. Estudio de susceptibilidade antimicrobiana de Salmonella enterica en muestras de origen animal y alimentario. **Rev Med Chile**. 2013;141(3):298-304

LAMAS, I.B; GONÇALVES L; JUNIOR O. L; ELLER L. K. W. Avaliação microbiológica de carne moída e quibe cru comercializada em uma cidade do Oeste Paulista. **Colloquium vitae**. jan- abr; 12(1): 86-92 2020

LIMA E. T, ANDREATTI-FILHO R. L, PINTO J. P. A. N. Perfil de susceptibilidade antimicrobiana de sorotipos de salmonella isolados de produtos avícolas. **Veterinária e Zootecnia**, Botucatu. 2009;162(2):394-400

MACIEL, M. J; MACHADO, G; AVANCINI, C. A. M. Investigação da resistência a antibióticos e a desinfetantes de Salmonella spp. isoladas em produtos e matéria-prima de origem animal (suínos e aves). **Revista brasileira saúde e produção animal**. 2019, vol.20

MARTÍNEZ C. L., CABRERA D. E., PÉREZ M. J.A., GARAY, M. L.E., VARELA-H. J.J., CASTILLO A., LUCIA L., ÁVILA M.G., CARDONA L. M.A., GUTIÉRREZ-G. P; MARTÍNEZ-G. N.E. 2015. Quantitative distribution of Salmonella spp. and Escherichia coli on beef carcasses and raw beef at retail establishments. **Int. J. Food Microbiol**. 210(1):149-155.

MELO, A. M. A; BORGES, M. F; ALEXANDRE, D.L; FURTADO, R.F; ALVES, C.R; FIGUEREDO, E. A. T. Métodos alternativos para detecção de salmonella em alimentos. Fortaleza: **Embrapa Agroindústria Tropical**, 2018. ISSN 2179-8184; 183

OLIVEIRA, S.D.; FLORES, F.S.; SANTOS, L.R.; BRANDELLI, A. Antimicrobial resistance in *Salmonella* Enteritidis strains isolated from broiler carcasses, food, human and poultry-related samples. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.97, n.3, p.297-305, 2005.

PAGANO, M; CAETANO, S. Prevalencia de infecciones causadas pore Salmonella sp. en Brasil en el período de 2013 a 2017. **Journal infection control.** 2019 Abr-Jun;8(2):56-62 [ISSN 2316-5324]

RIBEIRO, L. P. Salmonella Heidelberg isoladas de alimentos e pacientes humanos: Susceptibilidade aos antimicrobianos. 2018. 40 f. **Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária)** - Universidade Federal de Uberlândia**,** Uberlândia, 2018.

SANTOS MS, ESTEVINHO LM, CARVALHO CAL, MORAIS JS, CONCEIÇÃO ALS, PAULA VB, MAGALHÃES-GUEDES K AND ALMEIDA RCC. Probiotic Yogurt with Brazilian Red Propolis: Physicochemical and Bioactive Properties, Stability, and Shelf Life. **Jour of Food Sci**, 2019;(84):3429-3436. doi:10.1111/1750-3841.14943

SANS P. & COMBRIS P. World meat consumption patterns: An overview of the last fifty years (1961-2011). **Meat Sci**. 2015. 109:106-111

SILVA, E. C. A. Preparo do extrato de própolis legal. Mensagem Doce. São Paulo, n. 70, 2003.

SILVA, J. B., COSTA, K. M.F.M., COELHO, W. A.C., PAIVA, K. A.R., COSTA, G. A.V., SALATINO, A., FREITAS, C.I.A; BATISTA, J. S.(2016). Quantificação de fenóis, flavonoides totais e atividades farmacológicas de geoprópolis de Plebeia aff. Flavocincta do Rio Grande do Norte. **Pesquisa Veterinária Brasileira,** *36*(9), 874-880.

SOUZA, D. M. N; OLINDA, R. G; MARTINS, C. G; ABRANTES, M. R; COELHO, W, A, C; SILVA, J. B.A; MORAIS, S. M. M; BATISTA, S. J. Prospecção Fitoquímica, Toxicidade In Vitroe Avaliação Das Atividades Anti-Radicalar E Antibacteriana Da Geoprópolis Da Abelha Jandaíra. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.9, n.2, p.134-140, 2015 - ISSN 1981-5484

SUNG, S; CHOI, G; SHIN, B (2017) External use of propolis for oral, skin, and genital diseases: a systematic review and meta-analysis. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2017.

OLIVEIRA, S.D.; FLORES, F.S.; SANTOS, L.R.; BRANDELLI, A. Antimicrobial resistance in *Salmonella* Enteritidis strains isolated from broiler carcasses, food, human and poultry-related samples. ***International Journal of Food Microbiology***, Amsterdam, v.97, n.3, p.297-305, 2005.

OLIVEIRA A. P. D. Salmonella sp. em frango e ambiente de abate [dissertation]. Goiânia (GO): **Universidade Federal de Goiás;** 2012.

RODRIGUES, C. F**.** Pesquisa de coliformes e salmonella spp. em ovos comercializados em feira livre, no município de Espigão do Oeste – Rondônia. **Dissertação (Mestrado**). São Paulo, 2016.

SANTANA, E. S.; OLIVEIRA, F. H.; BARNABÉ, A. C. S.; MENDES, F. R.; ANDRADE, M. A. Uso de antibióticos e quimioterápicos na avicultura. **Centro Científico Conhecer**. 2011. 21 p. Disponível em: http://www.conhecer.org.br/enciclop/2011a/agrarias/uso%20de%20antibioticos.pdf. Acesso em: Dezembro 2020

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

SILVA, A. J. H; ANJOS, C. P; NOGUEIRA, L.S; RIBEIRO, A. C. R, FRAGA, E. G. S Salmonella spp. um agente patogênico veiculado em alimentos. **Encontro de Extensão, Docência e Iniciação Científica** (EEDIC), v. 5, n. 1, 2019.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. Microbiologia. 10. ed. Porto Alegre: **Artmed**, 2012. 934 p.

TOKARNIA, Mariana. Uso inadequado de antibióticos aumenta resistência de bactérias. Publicado em 19/11/2019. **Agencia Brasil** – Rio de Janeiro. Disponível em:

https://agenciabrasil.ebc.com.br/saude/noticia/2019-11/uso-inadequado-de-antibioticos-aumenta-resistencia-de-bacterias. Acesso em: 10/12/2020

WELKER, C. A. D.; BOTH, J. M. C.; LONGARAY, S. M.; HAAS, S.; SOEIRO, M. L. T.; RAMOS, R. C. 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 Biociência**. , v.8, n.1, p.44 48, 2010.

WHO. World Health Organization. Salmonella (non-typhoidal). 2018. Disponível em: https://www.Who.Int/News-Room/Fact-Sheets/Detail/Salmonella-(Non-Typhoidal). Acesso em: Dezembro de 2020