

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Veterinária



Dissertação

**Caracterização de *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. multirresistentes
veiculadas por linguiças coloniais dessecadas vendidas em feiras livres no
município de Pelotas, RS**

Bruna G. S. Draber

Pelotas, 2025

Bruna Garofali Simone Draber

**Caracterização de *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. multirresistentes
veiculadas por linguiças coloniais dessecadas vendidas em feiras livres no
município de Pelotas, RS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área de concentração: Saúde Única)

Orientador: Rodrigo Casquero Cunha
Coorientadora: Natacha Deboni Cereser

Pelotas, 2025

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação da Publicação

D756c Draber, Bruna Garofali Simone

Caracterização de *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. multirresistentes veiculadas por linguças coloniais dessecadas vendidas em feiras livres no município de Pelotas, RS. Bruna Garofali Simone Draber; Rodrigo Casquero Cunha, orientador; Natacha Deboni Cereser, coorientadora. — Pelotas, 2025.

41 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, 2025.

1. Doenças de transmissão hídrica e alimentar. 2. *Salmonella*. 3. *Escherichia coli*. 4. Saúde única. 5. Embutidos. I. Cunha, Rodrigo Casquero, orient. II. Cereser, Natacha Deboni, coorient. III. Título.

CDD 614.511

Bruna Garofali Simone Draber

Caracterização de *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. multirresistentes veiculadas
por linguças coloniais dessecadas vendidas em feiras livres no município de
Pelotas, RS

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em
Ciências, Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária,
Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 24/02/2025

Banca examinadora:

Prof. Dr. Rodrigo Casquero Cunha (Orientador)
Doutor em Ciência Animal pela Universidade Federal de Mato Grosso

Prof. Dra. Ângela Maria Fiorentini
Doutora em Ciência de Alimentos pela Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Dr. Fábio Leivas Leite
Doutor em Ciências Veterinárias pela University of Wisconsin

Dr. Kauê Rodriguez Martins
Doutor em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Dedico este trabalho a minha família que sempre me apoiou

Agradecimentos

Agradeço aos meus pais, avó e irmão pelo apoio incondicional durante essa jornada. Gostaria de agradecer aos meus colegas do Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal e às professoras que sempre me auxiliam quando necessário na primeira parte do meu trabalho e a Lisiane, técnica do laboratório, que é essencial em todos os trabalhos realizados ali. Também agradeço aos meus colegas do Laboratório de Biologia Molecular Veterinária por toda a paciência e apoio para a finalização do meu projeto. Agradeço ao meu Orientador, o professor Rodrigo Casquero Cunha, pelo apoio e auxílio durante esses dois anos de mestrado e à minha coorientadora, professora Natacha Deboni Cereser, por tudo durante todos esses anos de orientação. Finalmente agradeço a Universidade Federal de Pelotas pela oportunidade de realizar este trabalho que além de proporcionar um crescimento profissional, proporciona um crescimento pessoal. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 0001.

“Alis volat propriis”

Resumo

DRABER, Bruna Garofali Simone. **Caracterização de *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. multirresistentes veiculadas por linguças coloniais dessecadas vendidas em feiras livres no município de Pelotas. RS.** 2025. 41f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2025.

A linguça colonial dessecada é um tipo de embutido amplamente consumido no sul do Brasil. É um produto vendido pronto para o consumo que pode carrear patógenos para seus consumidores se não manipulada corretamente desde a fabricação até a venda. O risco de veiculação de microrganismos patogênicos e multirresistentes por produtos de origem animal é amplamente conhecido ao redor do mundo, visto isso, o objetivo deste trabalho foi verificar a presença e isolar bactérias do gênero *Salmonella* spp. e da espécie *Escherichia coli* de linguças coloniais vendidas nas feiras livres do município de Pelotas, verificar a multirresistência das mesmas e posteriormente, realizar a caracterização molecular destes isolados, também evidenciar seu risco à saúde dos consumidores, visto que são produtos de fácil acesso e vendidos prontos para o consumo. Foram obtidas 88 amostras destes produtos. As análises microbiológicas foram realizadas seguindo a metodologia indicada pelo MAPA para pesquisa de *Salmonella* spp. e detecção e enumeração de *E. coli*. Para avaliação da multirresistência, foi realizado o teste de disco difusão de Kirby-Bauer para seis classes diferentes de antimicrobianos. Foi pesquisada a presença do gene *InvA* para os isolados de *Salmonella* spp. pela técnica de PCR e os genes *eae*, *stx*, *est*, *elt*, *ipaH*, *aggR*, *CVD432* e *aspU* foram pesquisados por meio de multiplex PCR para os isolados de *E. coli*, verificando os patótipos desta bactéria. O total de amostras positivas para presença de *Salmonella* spp. 39,7% (35/88), e 17% (15/88) apresentaram contagens acima do permitido para *E. coli*. Destas amostras, 47,7% (42/88) foram positivas para pelo menos um destes microrganismos patogênicos multirresistentes. Destas amostras positivas, foram obtidos 35 isolados de *Salmonella* spp. e 25 isolados de *E. coli* onde todos apresentaram resistência a pelo menos três classes diferentes de antimicrobianos. Foram identificados 30 (85,7%) isolados com a presença do gene *InvA*, caracterizando a espécie *Salmonella* Typhimurium e 5 isolados de *E. coli* apresentaram a presença do gene *eae*, caracterizando *E. coli* enteropatogênica (EPEC). O presente estudo revela o alto risco aos consumidores devido à veiculação de bactérias patogênicas multirresistentes em linguças coloniais dessecadas vendidas em feiras livres de Pelotas. A presença destes microrganismos, nestes produtos, representa uma séria ameaça à saúde pública.

Palavras-chave: doenças de transmissão hídrica e alimentar; *Salmonella*; *Escherichia coli*; Saúde Única; Embutidos

Abstract

Draber, Bruna Garofali Simone. **Characterization of *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. multidrug-resistant transmitted by dry colonial sausages sold at open markets in the municipality of Pelotas, RS.** 2025. 41f. Dissertation (Master degree in Sciences) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2025.

Colonial sausage is a type of processed meat widely consumed in southern Brazil. It is a ready-to-eat product that can carry pathogens to consumers if not handled properly from production to sale. The risk of transmitting pathogenic multidrug-resistant microorganisms through animal-derived products is well-known worldwide. Therefore, this study aimed to detect and isolate multidrug-resistant bacteria of the genus *Salmonella* spp. and the species *Escherichia coli* from colonial sausages sold at open markets in the city of Pelotas. The study also sought to perform molecular characterization of these isolates present in these ready-to-eat products, highlighting their health risks to consumers. A total of 88 samples of these products were obtained. Microbiological analyses were conducted following the methodology recommended by ANVISA for the detection of *Salmonella* spp. and detection and enumeration of *Escherichia coli*. To assess multidrug resistance, the Bauer disk diffusion test was performed for six different classes of antimicrobials. The presence of the *invA* gene was investigated in *Salmonella* spp. isolates using PCR, and the genes *eae*, *stx*, *est*, *elt*, *ipaH*, *aggR*, *CVD432*, and *aspU* were investigated using multiplex PCR for *E. coli* isolates to determine the pathotypes of this bacterium. Results showed that 39.7% (35/88) of the samples were positive for *Salmonella* spp., and 17% (15/88) had *E. coli* counts above the legal limit. All isolates exhibited resistance to at least three different classes of antimicrobials. Thirty isolates were identified with the presence of the *invA* gene, characterizing the species *Salmonella* Typhimurium, and five *E. coli* isolates presented the *eae* gene, characterizing enteropathogenic *E. coli* (EPEC). This study reveals the high risk to consumers due to the transmission of pathogenic multidrug-resistant bacteria in colonial sausages sold at open markets in Pelotas. The presence of these microorganisms in these products represents a serious threat to public health.

Keywords: water and foodborne diseases; *Salmonella*; *Escherichia coli*; one health; sausages

Lista de Abreviaturas e Siglas

DTHA	Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar
MAPA	Ministério da Agricultura e Pecuária e Abastecimento
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
BPF	Boas Práticas de Fabricação
STEC	<i>Escherichia coli</i> Produtora de Shiga Toxina
EPEC	<i>Escherichia coli</i> Enteropatogênica
ETEC	<i>Escherichia coli</i> Enterotoxigênica
EHEC	<i>Escherichia coli</i> Enterohemorrágica
EIEC	<i>Escherichia coli</i> Enteroinvasiva
EaggEC	<i>Escherichia coli</i> Enteroagregativa

Lista de Símbolos

%	Percentual
°C	Grau Celsius

Sumário

1 Introdução.....	13
2 Revisão da Literatura.....	16
2.1 Linguíça colonial.....	16
2.2 Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar.....	17
2.3 <i>Salmonella</i> spp.....	19
2.4 <i>Escherichia coli</i>.....	20
2.4 Multirresistência a antimicrobianos.....	22
2.5 Reação em cadeia da polimerase (PCR).....	23
3 Artigo.....	24
4 Considerações Finais.....	35
5 Referências.....	36

1 Introdução

O Decreto 6.124 (2018) regulamenta as feiras livres no município de Pelotas, onde é citada como obrigatória a obtenção do alvará sanitário para a venda de produtos de origem animal. Embutidos, como linguiças coloniais, passam por diversas etapas de processamento, onde ocorre intensiva manipulação, podem veicular diversos microrganismos patógenos aos seus consumidores (PAVELQUESI et al., 2021). A qualidade microbiológica de um produto está ligada a três aspectos: a preservação deste alimento, detecção e prevenção de patógenos e o controle de doenças de transmissão hídrica e alimentar (DTHA's) (MELO et al. 2018). Segundo o Ministério da Saúde (BRASIL, 2024), entre os anos de 2014 e 2023, foram notificados 6.874 surtos de DTHA's no Brasil, onde bactérias dos gêneros *Salmonella* spp. e *Staphylococcus* spp. e da espécie *Escherichia coli* são as mais envolvidas.

Diversos microrganismos patogênicos podem desenvolver resistência a antimicrobianos, que é definida pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como a capacidade do microrganismo de ser resistente a três ou mais classes de antimicrobianos, sendo uma ameaça a saúde mundial visto a resistência a antimicrobianos causa 1,27 milhão de mortes diretas por ano e contribui para mais 4,19 milhões de outras mortes (OMS, 2024). Qualquer produto de origem animal, quando não ocorre o seu armazenamento e refrigeração de forma adequada, pode carrear patógenos multirresistentes a antimicrobianos (MONTE et al., 2021).

Bactérias da espécie *E. coli* são comensais do trato gastrointestinal, entretanto, possuem a capacidade de causar infecções em humanos e animais (RAHMAN et al., 2020). Esses microrganismos pertencem a família *Enterobacteriaceae*, são bacilos gram-negativos, móveis, não formadores de esporos, anaeróbio facultativo, capazes de fermentar lactose a 45 °C (FAULA et al. 2015). Essa espécie possui grande diversidade, com diversos exemplares patogênicos, que podem causar diversos tipos

de síndromes diarreicas, sendo relacionadas ao consumo de diversos alimentos e água (SANTOS, 2023).

Exemplares do gênero *Salmonella* spp. aparecem muitas vezes associadas a ingestão de produtos de origem animal, esses alimentos são a principal via de veiculação destas bactérias para humanos (FERRARI et al., 2019). A infecção causada por esses patógenos é denominada salmonelose, onde indivíduos infectados apresentam transtornos gastrointestinais, como vômito e diarreia (BARROS et al., 2020). Anualmente, microrganismos deste gênero causam de 200 milhões a um bilhão de infecções ao redor do mundo (CHLEBICZ, SLIZEWSKA, 2018).

É de extrema importância a identificação de bactérias patogênicas em produtos de origem animal. Por conta disso as análises microbiológicas realizadas em carne e produtos cárneos são instituídas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e seguem os parâmetros da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), encontrados na Instrução normativa 313 (2024). Para a pesquisa de *Salmonella* spp. é requisitada a ausência deste patógeno em 25 gramas do produto e a análise é realizada seguindo a ISO 6579 (2017). Já para a detecção e enumeração de *E. coli*, tem o limite de 10^2 UFC/g de segue a ISO 7251 (2005). Essas análises e parâmetros são para produtos cárneos maturados, dessecados, como presuntos crus, copas, salames, linguiças dessecadas, charque, entre outros.

Ferramentas como a reação em cadeia da polimerase (PCR) promovem uma identificação precisa e mais rápida de microrganismos isolados de produtos de origem animal, como as linguiças coloniais (SANTOS et al., 2001). É uma técnica rápida, sensível e específica que permite a identificação de gênero e espécie de diversos microrganismos, além de possibilitar a identificação de fatores de virulência dos mesmos (ZSCHÖCK et al., 2005). Utilizando essa técnica para isolados do gênero *Salmonella* spp., pode-se identificar a espécie *S. enterica* subespécie *enterica* sorovar Typhimurium, utilizando a técnica descrita por Rahn et al. (1992). Já para exemplares da espécie *E. coli*, uma multiplex PCR pode ser utilizada para identificação de patótipos, com a técnica descrita por Toma et al. (2003).

O objetivo deste trabalho foi verificar a presença e isolar bactérias do gênero *Salmonella* spp. e da espécie *E. coli* de linguiças coloniais vendidas nas feiras livres do município de Pelotas, RS, verificar a multirresistência das mesmas e posteriormente, realizar a caracterização molecular destes isolados, também evidenciar seu risco à saúde dos consumidores, visto que são produtos de fácil acesso e vendidos prontos para o consumo.

2 Revisão da Literatura

2.1 Linguixa colonial

A cadeia produtiva de carne suína envolve desde os fornecedores de insumos para a produção animal, os pecuaristas, os transportadores dos animais vivos, os frigoríficos, os mercados, os açougues e, até os consumidores. É de extrema importância, para a garantia de um alimento inócuo e de qualidade, que todos os envolvidos neste processo estejam alinhados com este propósito (SOUZA, 2019).

A carne suína é a fonte de proteína animal mais consumida ao redor do mundo. Em 2024, o Brasil produziu mais de 5 milhões de toneladas deste produto e ocupa o lugar de quarto maior produtor mundial de carne suína (CONAB, 2025). O consumo de embutidos suínos pelos brasileiros apresenta um crescimento nos últimos anos. Embora o consumo de carne suína *in natura* tenha aumentado, os produtos embutidos, como linguiças e salame, continuam agradando o paladar dos brasileiros. A indústria de embutidos suínos no país é consolidada, movimentando bilhões de reais anualmente (TECNOCARNE, 2024).

Segundo a IN 04 de 2000 do MAPA (BRASIL), entende-se por linguiça o produto cárneo industrializado, obtido de carnes de animais de açougue, adicionados ou não de tecidos adiposos, ingredientes, embutido em envoltório natural ou artificial, e submetido ao processo tecnológico adequado, sua classificação varia de acordo com a tecnologia de fabricação, podendo ser um produto cozido, fresco, seco, curado e/ou maturado, entre outros. Esses embutidos são denominados de acordo com a composição da matéria prima e/ou da técnica de fabricação. Então linguiças dessecadas passam pelo processo de dessecação, apresentando vantagem em relação aos demais, visto que pode ser disponibilizado ao seu consumidor em curto período de tempo, já que não necessita de tempo de maturação para o consumo (KAIPERS, 2017).

A linguiça colonial é considerada um produto com elevado consumo, principalmente no Sul do Brasil, devido a fatores como a influência das culturas germânica e italiana

e, também, à facilidade de aquisição e consumo destes industrializados, visto que são vendidos prontos, não precisando passar por qualquer processo de cozimento para seu consumo (PRATI & HENRIQUE, 2017). Apesar da fácil aquisição, produtos deste tipo podem veicular diversos patógenos para seus consumidores por conta das condições desfavoráveis de produção e comercialização, onde muitas vezes não são seguidas as boas práticas de fabricação ou o produto fica exposto, e, por ser um produto cárneo que não sofre etapas com calor no seu processo, passando diversos processos durante sua fabricação, onde ocorre diversas manipulações do mesmo, esse risco é aumentado (MUNARI, 2016).

A qualidade de produtos de origem animal pode ser verificada através de análise microbiológicas, as quais devem estar de acordo com os padrões estabelecidos pela ANVISA, por meio da Instrução Normativa nº 313 de setembro de 2024. Para embutidos cárneos maturados, como o salame/linguiça colonial, o máximo tolerado de *E. coli* é de 10^2 UFC/g, já para *Staphylococcus* coagulase positiva é de 10^3 UFC/g e, ainda, ausência de *Salmonella* spp. em 25 g de amostra (BRASIL, 2024).

2.2 Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar (DTHA)

Doenças de transmissão hídrica e alimentar (DTHA) caracterizam-se como síndromes que englobam sintomas como náuseas, vômitos, anorexia, diarreia, acompanhada ou não de febre, sempre ligadas à ingestão de alimentos ou água contaminados. Apesar de os sintomas gastrointestinais serem os mais comuns, também podem ocorrer outras manifestações, relacionadas a outros sistemas como renal, hepático e até nervoso central. O quadro clínico depende do agente etiológico envolvido, podendo variar de um leve desconforto abdominal a quadros mais sérios, cursando para insuficiência renal aguda e até morte (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

Caracteriza-se como surto quando duas ou mais pessoas possuem o quadro clínico semelhante e relação de consumo de algum alimento ou água da mesma fonte e/ou com histórico de contado entre si ou alguma alteração no

comportamento da doença. Esses surtos constituem eventos de saúde pública, podendo representar um risco a essa população. São eventos de notificação compulsória imediata, sendo obrigatório seu registro ao Sistema de Informação de Agravos de Notificação (Sinan) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021).

Segundo o informe de surtos de DTHA de 2024 do Sinan, do ano de 2014 ao ano de 2023, foram notificados 6.874 surtos, dos quais, mais de 500 mil indivíduos foram expostos e mais de 100 mil pessoas ficaram doentes. Surtos são caracterizados quando dois ou mais indivíduos apresentam sintomas similares após ingerirem alimentos e/ou água da mesma origem, normalmente em um mesmo local. Também é mostrado que 34% dos surtos tiveram início em residências e a água e a maior causadora desses surtos, seguida de diversos alimentos, incluindo produtos de origem animal. Bactérias como *E. coli*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus* spp. e *Bacillus cereus* aparecem como os agentes responsáveis por esses surtos. Outros patógenos como vírus e protozoários também aparecem neste boletim (BRASIL, 2024).

A qualidade microbiológica dos produtos é de extrema importância para garantir a inocuidade dos alimentos e segurança do consumidor. Microrganismos são encontrados em diversos lugares e ambientes, muitos deles são prejudiciais à saúde e podem ser encontrados em alimentos, demonstrando a grande preocupação com o controle e a prevenção de doenças e contaminações (MENDES & RIBEIRO, 2021). Condições duvidosas de higiene, tanto nas instalações quanto entre os manipuladores, são as principais fontes de contaminação dos produtos, já que permitem a veiculação desses patógenos pelos alimentos (DE OLIVEIRA et al., 2021).

Destaca-se a importância da legislação para padronização e garantia dos métodos de pesquisa, do controle da qualidade dos alimentos e os limites de presença de toxinas e patógenos nestes produtos, entretanto, caso as normas não sejam cumpridas juntamente com as boas práticas de fabricação (BPF), higienização, controle do processamento e produção, há o risco do surgimento de contaminação e possíveis surtos (NASCIMENTO et al., 2023). As BPF funcionam em sintonia com a educação contínua dos colaboradores, contribuindo para a redução da incidência de surtos de DTHA (SIRTOLI; COMARELLA, 2018).

2.3 *Salmonella* spp.

Bactérias do gênero *Samonella* spp. pertencem à família *Enterobacteriaceae*, são bacilos Gram-negativos, anaeróbios facultativos, fermentadores de glicose, não esporulados, móveis e conseguem se multiplicar em temperaturas de 8 a 45 °C e pH de 4 a 8 (TRABULSI; ALTERTHUM, 2015). A espécie *Salmonella enterica* subespécie *enterica* apresenta maior importância clínica, pois dois de seus exemplares causam doenças em seres humanos, os sorovares Enteritidis e Typhimurium, apresentando grande relevância para a saúde pública, podendo também atingir outros animais (ANTUNES et al., 2016). Já o sorovar Gallinarum é o maior responsável pela doença em aves. Atualmente são conhecidos mais de 2.600 sorovares deste gênero de bactéria, dos quais grande parte é capaz de causar doenças em seres humanos (BRASIL, 2021).

Os indivíduos infectados pela espécie *S. entérica* apresentam um quadro de gastroenterite, caracterizado por uma infecção autolimitada, que cursa por conta da invasão das bactérias na mucosa intestinal e da multiplicação, tendo um período de incubação entre 6 e 72 horas. Geralmente, febre moderada, náuseas, dor abdominal, cólicas e diarreia inflamatória, com ou sem a presença de sangue, são os sintomas desta infecção, podendo durar de 4 a 7 dias (CDC, 2020). É uma infecção autolimitante, geralmente o tratamento utilizado é baseado em reposição hídrica, sem a necessidade de utilizar antimicrobianos (CDC, 2019). Entretanto, essas cepas podem atravessar a mucosa intestinal e percorrer o sistema linfático e circulatório, sendo disseminadas de forma sistêmica. Alguns indivíduos possuem maior probabilidade desta ocorrência, como por exemplo pacientes imunocomprometidos, pessoas subnutridas, idosos e crianças, mesmo que não seja frequente, as infecções de maior gravidade podem levar a óbito, desenvolvendo septicemia ou outras infecções fora do trato gastrointestinal (ANTUNES et al., 2016; CDC, 2020).

O gene *InvA* codifica a proteína de mesmo nome, que desempenha uma função essencial na invasão das células do hospedeiro principalmente das células epiteliais do intestino, sendo um elemento de patogenicidade da

Salmonella enterica subespécie *enterica* sorovar Typhimurium. Essa proteína integra um sistema de secreção do tipo III (T3SS), onde a estrutura especializada auxilia o microrganismo a introduzir proteínas que modulam a célula do hospedeiro, facilitando a inserção da bactéria na mesma, conduzindo a infecção, esse sistema abrange o meio intracelular, o espaço periplasmático e a membrana externa, permitindo que a bactéria estabeleça interação com diversos tipos de hospedeiros, onde as proteínas efetoras modulam diversas funções biológicas, como expressão gênica (YEHIA et al., 2020).

2.4 *Escherichia coli*

Escherichia coli tem forma bacilar, é Gram-negativo, anaeróbico facultativo e pertence à família *Enterobacteriaceae*. A maioria dos exemplares desta espécie vive de forma comensal no trato gastrointestinal de animais e dificilmente apresentam manifestações clínicas em hospedeiros saudáveis. Entretanto, algumas cepas possuem fatores de virulência podendo causar doenças como infecções intestinais (doenças diarreicas/entéricas) e infecções do trato urinário, além de sepses e meningites. Cepas desta bactéria que possuem a capacidade de cursar um quadro de diarreia são classificadas como *E. coli* diarreiogênicas. Além disso, também é classificada por patótipos, onde seguem as categorias de acordo com o seu fator de virulência e os sintomas que são apresentados no quadro clínico. (GOMES et al., 2016).

Escherichia coli produtor de Shiga toxina (STEC), constituem bactérias caracterizadas pela produção desta citotoxina capaz de causar a síndrome urêmica hemolítica, podendo ser fatal para indivíduos imunossuprimidos, crianças e idosos. A infecção por essa cepa ocorre principalmente por meio da ingestão ou manipulação de alimentos contaminados (KIM, LEE e KIM, 2020). Antigamente era chamada por *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC), pois esta cepa produz duas toxinas nomeadas verotoxinas (VT1 e VT2). Por conta da similaridade de atividade e estrutura destas toxinas da produzida por *Shigella dysenteriae* (ST), VT1 e VT2 são conhecidas, também, como Shiga-like toxina 1 (SLT1) e Shiga-like toxina 2 (SLT2), posteriormente foram renomeadas como

Stx1 (VT1 ou SLT1), Stx2 (VT2 ou SLT2) e, atualmente por STEC (MOURA et al., 2009; GOMES et al., 2016).

Escherichia coli enteropatogênica (EPEC) é um patótipo muito identificado em escolas e hospitais (PARK et al., 2014). Essa cepa pode infectar tanto humanos, como animais, tendo como principais sintomas diarreia aquosa, dor abdominal, náusea, vômito e febre, por conta da colonização das microvilosidades das células intestinais, fazendo com que as bordas desapareçam, causando diarreia crônica (SINGH et al., 2015). A lesão desta cepa é originada por genes que estão inseridos numa ilha de patogenicidade chamada LEE (Locus of Enterocyte Effacement); sinais de transdução e aderência íntima promovida pela intimina (gene *eae*) correspondem respectivamente os estágios de interação entre EPEC e as células do epitélio intestinal (ARAIS et al., 2018).

Escherichia coli enterotoxigênica (ETEC) é conhecida como diarreia dos viajantes, principalmente em países em desenvolvimento. Essas cepas colonizam as proximidades do intestino delgado, produzindo toxinas que atuam nessas células e causam diarreia aquosa e hipotermia (ROBINS-BROWNE et al. 2016).

Escherichia coli enteroinvasiva (EIEC) é um patógeno intracelular facultativo que possui a capacidade de causar diarreia. Causa distúrbios no intestino grosso, onde invade e se prolifera nas células epiteliais, propagando-se para as células vizinhas, por conta do seu mecanismo de invasão. Causa febre e diarreia profusa, contendo muco e sangue, podendo cursar para ulceração deste órgão (SANTOS, 2024).

Escherichia coli enteroagregativa (EaggEC) é capaz de colonizar todo o intestino, causando diarreia aquosa persistente, que pode durar mais de 14 dias. Por conta da sua capacidade de formar biofilme, sua colonização pode ser mais persistente, causando esses sintomas (SANTOS, 2024). Algumas cepas de EaggEC possuem o gene *stx*, presentes na STEC, responsáveis pela produção da Shiga toxina.

2.5 Multirresistência a antimicrobianos

Muitos dos prejuízos causados por patógenos podem ser exacerbados caso os mesmos apresentem multirresistência aos antimicrobianos. A resistência bacteriana a antimicrobianos tornou-se um grave problema de saúde pública. Há evidências que o uso indiscriminado de antibióticos para o tratamento de animais ou como estimulador de crescimento, tornem seus produtos e derivados, fonte para a resistência aos antimicrobianos utilizados em humanos (HENNING, 2021). A veiculação de patógenos multirresistentes é possível por diversos meios, até mesmo por alimentos, mas esses microrganismos também estão presentes em hospitais, ambientes agrícolas, na aquicultura, água, solo, vida selvagem e muitos outros ambientes (MARQUES et al., 2023).

A resistência antimicrobiana é caracterizada pela perda de efetividade destes fármacos contra bactérias, vírus, fungos e parasitas. Com isso, as enfermidades causadas pelos mesmos apresentam maior gravidade e o risco de se disseminarem e serem transmitidas a um número maior de indivíduos aumenta, causando mais morbidade e mortalidade (OMS, 2024). Atualmente, continuam sendo empregados antimicrobianos descobertos na década de 1980, bem como suas variações, incluindo os beta-lactâmicos, que pertencem à classe da penicilina. A OMS considera a multirresistência a antimicrobianos uma ameaça à saúde global, segurança dos alimentos e desenvolvimento social. Essa resistência ocorre quando microrganismos, como bactérias, vírus, fungos e parasitas, sofrem mutações que os tornam resistentes aos medicamentos anteriormente eficazes, portanto essas bactérias resistentes sobrevivem, podendo transmitir essas características para outras, aumentando o risco de disseminação de doenças e dificultando o tratamento (OMS, 2023).

Dentre os muitos fatores contribuintes para a resistência microbiana, tem-se a falta de informações a respeito do uso adequado desses medicamentos, levando parte da população a tomar decisões a respeito de antimicrobianos baseadas em senso comum, como descarte incorreto e uso indiscriminado (OMS, 2023). Órgãos internacionais alertam sobre esse assunto, já que a distribuição desses microrganismos pode causar grande prejuízo além da parte

clínica, impactando na produção de alimentos, rações, comércio e meios de subsistência, visto que interfere tanto na saúde humana, quanto na animal (MONTE et al., 2021).

2.6 Reação em Cadeia da Polimerase

A PCR é uma técnica de biologia molecular que permite a amplificação de segmentos específicos de DNA, gerando bilhões de cópias a partir de uma sequência-alvo. A PCR foi desenvolvida em 1983 por Kary Mullis revolucionando várias áreas científicas, inclusive a microbiologia (OPENSTAX, 2016). É uma ferramenta de extrema importância para diversos estudos, visto que permite uma análise com maior especificidade e maior rapidez, do que as técnicas bioquímicas convencionais.

Na microbiologia, pode ser usada para identificação de espécies, diagnóstico de infecções, estudos de resistência antimicrobiana, análise de diversidade de microrganismos, entre outros. A precisão, sensibilidade e rapidez desta técnica, são características que a tornam uma ferramenta essencial na pesquisa. Atualmente, existem inúmeras variações da PCR que foram desenvolvidas para acatar as necessidades de pesquisa e diagnóstico. Alguns exemplos mais utilizados são: PCR convencional, que é a forma clássica desta reação; PCR em tempo real, que permite monitorar a amplificação do DNA em tempo real por meio de sondas fluorescentes, possibilitando a quantificação precisa do material genético presente na amostra; PCR multiplex, na qual ocorre a amplificação simultânea de múltiplas sequências-alvo em uma única reação, utilizando vários pares de primers e podendo ser no formato convencional ou em tempo real; e PCR digital que divide a reação em muitas pequenas reações de nanolitros (nL), permitindo a neutralização de inibidores e a quantificação absoluta de moléculas de DNA ou cDNA (FACILLITATE, 2023).

3 Artigo

Caracterização de *Salmonella* spp. e *Escherichia coli* multirresistentes veiculadas por linguiças coloniais dessecadas vendidas em feiras livres no município de Pelotas, RS

Characterization of multiresistant *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* transmitted by colonial dessert sausages sold at street markets in the city of Pelotas, RS

Bruna Garofali Simone Draber; Diago Dutra Lima; Kauê Rodriguez Martins; Natacha Deboni Cereser; Rodrigo Casquero Cunha

Submetido à revista Brazilian Journal of Microbiology

Caracterização de *Salmonella* spp. e *Escherichia coli* multirresistentes veiculadas por linguiças coloniais dessecadas vendidas em feiras livres no município de Pelotas, RS

Characterization of multiresistant *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* transmitted by colonial dessert sausages sold at street markets in the city of Pelotas, RS

Bruna Garofali Simone Draber - Médica Veterinária Especializada em Inspeção e Tecnologia de Produtos de Origem animal pela UFPEL – bruna.draber@gmail.com – Autora correspondente

Diago Dutra Lima - Biotecnologista, Graduado pela UFPEL – diagolima@gmail.com

Kauê Rodriguez Martins - Doutor em Ciências Veterinárias pela UFMS – kauerodriguez@gmail.com

Natacha Deboni Cereser - Doutora em Ciências Veterinárias pela UNESP – natachacereser@yahoo.com.br

Rodrigo Casquero Cunha - Doutor em Ciência Animal pela UFMS – rodrigocunha_vet@hotmail.com

Todos afiliados a Universidade Federal de Pelotas (UFPEL)

Manuscrito referente a dissertação de mestrado de Bruna Garofali Simone Draber, onde a CAPES foi a unidade de fomento que forneceu a bolsa

Conceitualização: Bruna Garofali Simone Draber; Metodologia: Diago Dutra Lima; Análise formal e investigação: Kauê Rodriguez Martins; Redação - preparação do rascunho original: Bruna Garofali Simone Draber; Redação - revisão e edição: Rodrigo Casquero, Natacha Deboni Cereser; Obtenção de financiamento: Rodrigo Casquero Cunha, Natacha Deboni Cereser; Recursos: Rodrigo Casquero Cunha, Natacha Deboni Cereser; Supervisão: Rodrigo Casquero Cunha.

Resumo

A linguiça colonial é um produto cárneo extremamente consumido no Sul do Brasil, sendo pela influência da cultura italiana e alemã, além sua produção simples e rápida. Porém, alguns embutidos podem favorecer o crescimento de microrganismos patogênicos, como *Salmonella* spp. e *Escherichia coli*, representando um risco à saúde pública. A multirresistência a antimicrobianos tem sido um problema global. Bactérias multirresistentes podem estar presentes em alimentos e ser veiculadas por eles. Neste estudo, 88 amostras de linguiças coloniais comercializadas em feiras livres de Pelotas, RS, Brasil, foram analisadas para pesquisa de *Salmonella* spp. e contagem de *E. coli*, onde os isolados obtidos foram testados para multirresistência a antimicrobianos e feita sua caracterização molecular posteriormente. A presença de *Salmonella* spp. foi constatada em 39,7% (35/88) das amostras, enquanto 17% (25/88) apresentaram contagem superior ao permitido para *E. coli*. Todos os isolados de *Salmonella* spp. demonstraram multirresistência, destacando-se a resistência a ciprofloxacino, indicando um aumento comparado a estudos anteriores. A identificação molecular revelou *Salmonella enterica subsp. enterica* sorovar Typhimurium em 85,7% (30/35) dos isolados, um dos principais sorovares associados a surtos de salmonelose. Foram obtidos 25 isolados de *E. coli*, onde todos apresentaram multirresistência, e 5 deles foram classificados como *E. coli* enteropatogênica (EPEC). Os resultados evidenciam a importância do monitoramento da qualidade microbiológica de produtos cárneos e a presença de patógenos multirresistentes, que pode ocorrer pelo uso indiscriminado de antimicrobianos.

Palavras-chaves: Embutidos, EPEC, enterica, multirresistência, saúde única

Abstrat

Colonial sausage is a meat product that is extremely popular in southern Brazil, due to the influence of Italian and German cultures, as well as its simple and quick production process. However, some processed meats can favor the growth of pathogenic microorganisms, such as *Salmonella* spp. and *Escherichia coli*, posing a public health risk. Multidrug resistance to antimicrobials has become a global problem. Multidrug-resistant bacteria may be present in food and transmitted through it. In this study, 88 samples of colonial sausages sold at open-air markets in Pelotas, RS, Brazil, were analyzed for the presence of *Salmonella* spp. and enumeration of *E. coli*. The isolates obtained were tested for antimicrobial multidrug resistance and later subjected to molecular characterization. The presence of *Salmonella* spp. was confirmed in 39.7% (35/88) of the samples, while 17% (25/88) showed *E. coli* counts above the permitted limits. All *Salmonella* spp. isolates exhibited multidrug resistance, with ciprofloxacin resistance standing out, indicating an increase compared to previous studies. Molecular identification revealed *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium in 85.7% (30/35) of the isolates, one of the main serovars associated with salmonellosis outbreaks. A total of 25 *E. coli* isolates were obtained, all of which exhibited multidrug resistance, and five of them were classified as enteropathogenic *E. coli* (EPEC). These results highlight the importance of monitoring the microbiological quality of meat products and the presence of multidrug-resistant pathogens, which may result from the indiscriminate use of antimicrobials.

Keywords: Sausages, EPEC, enterica, multidrug resistance, One Health

Introduction

Colonial sausage is a highly consumed product in southern Brazil, as this region has been heavily influenced by German and Italian cultures [1]. In addition to being easily accessible, its production is simple, and it is ready-to-eat without the need for thermal processing [2]. Sausages in general contain nutrients that favor the growth of pathogenic microorganisms [3]. Waterborne and foodborne diseases (WFDs) pose a significant risk to global public health due to their mortality and morbidity rates, affecting all age groups and social classes [3].

Contamination by bacteria of the genus *Salmonella* typically occurs through the ingestion of contaminated food, with animal-derived products being among the most implicated in the transmission of these bacteria [4]. These microorganisms cause an infection known as salmonellosis, in which affected individuals may experience fever, abdominal pain, diarrhea, nausea, and vomiting [5]. Many salmonellosis outbreaks require antimicrobial use for control and treatment; however, strains of these species have shown multidrug resistance, highlighting the need to study their antimicrobial resistance profiles, especially in foodborne strains [6].

Bacteria of the species *Escherichia coli* rank first as the most common etiological agents involved in WFD outbreaks in Brazil [7]. These are commensal microorganisms in the intestines of humans [6], but they are extremely versatile and capable of causing diarrheal infections with complications that may lead to death [8]. This species is divided into pathotypes, classified according to their virulence factors and associated symptoms: enteropathogenic (EPEC), enteroinvasive (EIEC), enterotoxigenic (ETEC), enteroaggregative (EAEC), enterohemorrhagic (EHEC), and Shiga toxin-producing (STEC) [9].

Bacterial multidrug resistance to antimicrobials is a global public health challenge. These pathogens can resist at least three different classes of antimicrobials [10], and such “superbugs” cause 1.27 million deaths annually worldwide [11]. International agencies have expressed grave concern over this issue, developing measures and warning about the consequences of bacterial spread [11]. Antimicrobials are widely used in both human and veterinary medicine, but their indiscriminate and unnecessary use contributes to the emergence of multidrug-resistant microorganisms [12]. Therefore, this study aimed to detect and isolate *Salmonella* spp. and *E. coli* from colonial sausages sold at street markets in Pelotas, RS, assess their multidrug resistance, perform molecular characterization of these isolates, and highlight the risk to consumer health, as these are readily accessible and ready-to-eat products.

Materials and Methods

This study was conducted at the Laboratory of Inspection of Products of Animal Origin (LIPOA) and the Veterinary Molecular Biology Laboratory (LaBMol-Vet), both located at the Faculty of Veterinary Medicine of the Federal University of Pelotas (UFPEL). A total of 88 samples of dried colonial sausages were collected biweekly from six different vendors between June 2023 and May 2024. These were sold at open-air markets in Pelotas, RS, and were analyzed for the presence of *Salmonella* spp. [13], thermotolerant coliform count, and *E.*

coli enumeration [14]. Only one of the vendors had legal permission to sell animal products at these markets; the others sold informally.

The isolates obtained were subjected to antimicrobial resistance testing using the disk diffusion method on Kirby-Bauer agar, standardized at 0.500 nm absorbance, and plated on Mueller-Hinton agar (KASVI, Italy) using a swab. Different drugs were tested for each bacterial genus. Isolates were considered multidrug-resistant if they showed resistance to three or more classes of antimicrobials [11]. The following drugs were used:

- *Salmonella* spp.: Ciprofloxacin, Cotrimoxazole, Chloramphenicol, Doxycycline, Ceftriaxone, and Ampicillin
- *E. coli*: Levofloxacin, Cotrimoxazole, Chloramphenicol, Ampicillin, Azithromycin, and Ceftriaxone

These antimicrobials were chosen for their use in both human and veterinary medicine and to cover six different drug classes. Inhibition zones were measured with a graduated ruler, and results were interpreted according to the Clinical and Laboratory Standards Institute [15].

DNA extraction of the isolates followed the method of Sambrook and Russel [16]. PCR was performed to detect the *invA* gene in *Salmonella* spp. isolates for identification of *Salmonella* Typhimurium [17]. For *Escherichia coli* isolates, multiplex PCR was used to detect the following genes: *eae*, *stx*, *est*, *elt*, *ipaH*, *aggR*, *CVD432*, and *aspU*, identifying the different pathotypes of this bacterium [18]. The sequences of the primer pairs are listed in Table 1.

Descrição	Sequência (5' – 3')	Gene alvo	Patotipos/sorovar	Pares de base
SK1	CCCGAATTCGGCACAAGCATAAGC			
SK2	CCCGGATCCGTCTCGCCAGTATTCG	<i>eae</i>	EPEC	881
VTcom-U	GAGCGAAATAATTTATATGTG			
VTcom-D	TGATGATGGCAATTCAGTAT	<i>stx</i>	STEC	518
AL65	TTAATAGCACCCGGTACAAGCAGG			
AL125	CCTGACTCTTCAAAAGAGAAAATTAC	<i>est</i>	ETEC	147
LT-l	TCTCTATGTGCATACGGAGC			
LT-r	CCATACTGATTGCCGCAAT	<i>elt</i>	ETEC	322
ipaIII	GTTCTTGACCGCCTTTCCGATACCGTC			
ipaIV	GCCGGTCAGCCACCCTCTGAGAGTAC	<i>ipaH</i>	EIEC	619
aggRks1	GTATACACAAAAGAAGGAAGC			
aggRks2	ACAGAATCGTCAGCATCAGC	<i>aggR</i>	EAEC	254
Eaggfp	AGACTCTGGCGAAAGACTGTATC			
Eaggbp	ATGGCTGTCTGTAATAGATGAGAAC	<i>CVD432</i>	EAEC	194
aspU-3	GCCTTTGCGGGTGGTAGCGG			
aspU-2	AACCCATTCGGTTAGAGCAC	<i>aspU</i>	EAEC	282
invA-F	GTACTATTGAAAAGCTGTCT			
invA-R	TCGCACCGTCAAAGGAACCG	<i>invA</i>	Typhimurium	284

Table 1. Primers used for the PCR's performed in this study

Results and Discussion

A total of 88 samples of colonial sausages were analyzed, of which 39.7% (35/88) tested positive for *Salmonella* spp. and 17% (15/88) showed *E. coli* counts above the acceptable limits established by IN 161 of 2022 [19] for dried meat products, which requires the absence of *Salmonella* spp. in 25 g of product and a maximum count of 10^2 CFU/g for *E. coli*. Multidrug-resistant microorganisms were found in 47.7% (42/88) of the samples analyzed, with at least one of the tested pathogens present. According to Santos [20], high bacterial counts are linked to fecal contamination at some stage of the food production chain. This is supported by Lopes et al. [21], who stated that a product's microbiological quality is tied to hygiene practices throughout the entire production process. Therefore, the presence of these bacteria can be associated with a lack of good manufacturing practices.

The 88 samples resulted in 35 *Salmonella* spp. isolates, which were subjected to PCR for the *invA* gene—responsible for cellular invasion—indicating *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium (*S. Typhimurium*) in 85.7% (30/35) of the cases. *S. Typhimurium* is among the leading causes of salmonellosis globally and is often linked to animal-derived products [22]. All isolates in this study were multidrug-resistant. Notably, all isolates showed resistance to ciprofloxacin, a quinolone-class drug, which contrasts with findings by Scheik et al. [3], where none of 14 isolates from sausages produced in a meat processing plant showed resistance to this drug. However, those isolates were collected between 2010 and 2013, highlighting an increasing trend in multidrug resistance. In a 2024 study by Rahman et al. [6], multidrug resistance was also reported in all *S. enterica* isolates, consistent with the findings of this study.

Twenty-five *E. coli* isolates were obtained, all of which showed multidrug resistance. A study in China found that 59.2% (29/49) of isolates from raw meat samples were resistant to 13 of 18 antimicrobials tested [23]. Another study conducted from 2015 to 2021 on imported meat in China showed a lower rate of multidrug resistance, with 16.7% (4/24) of isolates affected. This highlights a growing trend of multidrug resistance in *E. coli* as well [24]. Multiplex PCR of these isolates revealed the *eae* gene in five isolates, indicating that they were EPEC strains. This pathotype is found in various foods and is known to cause acute diarrhea in children, which can be fatal [25]. These results demonstrate a significant risk to consumers of these products, especially vulnerable groups such as children, given the severity of infection and treatment challenges due to multidrug resistance.

Conclusion

This study shows that consumers of dried colonial sausages sold at street markets in Pelotas, RS, are at significant risk of contamination. The study found that 47.7% (42/88) of these products carry pathogenic and multidrug-resistant microorganisms. Species such as *S. Typhimurium* and enteropathogenic *E. coli* (EPEC) can be lethal, especially in immunocompromised individuals, children, and the elderly. These products pose a public health hazard. The implementation of good manufacturing practices from raw material processing to final sales is

essential to reduce contamination risks, in addition to the need for active and consistent health surveillance at points of sale.

Referências

PRATI, P.; HENRIQUE, C. M. A interferência da praticidade e da conveniência na industrialização de alimentos. *Pesquisa & Tecnologia*, [S. l.], v. 14, n. 1, p. 1-5, jun. 2017.

HENNING, K., et al. (2021). Avaliação físico-química, microbiológica e perfil de resistência bacteriana em embutidos cárneos fermentados produzidos em Francisco Beltrão, Paraná. *Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável*, 11(1), 413–423. Available at: <https://periodicos.ufv.br/rbas/article/download/12852/7246>.

SCHEIK, L. et al. Occurrence, genetic diversity and resistance profiles of *Salmonella enterica* from Brazilian sausages collected at production facilities. *Journal of Food Science and Technology*, [s.l.], Published online: 8 Sept. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13197-023-05809-w>.

CDC (Centers for Disease Control and Prevention). *Salmonella*, 2022. Available at: <https://www.cdc.gov/salmonella/index.html>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Salmonella (non-typhoidal)*, 2018. Available at: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal)).

RAHMAN, M. M. et al. E. Molecular characterization of multidrug-resistant and extended-spectrum β -lactamases-producing *Salmonella enterica* serovars Enteritidis and Typhimurium isolated from raw meat in retail markets. *Antibiotics*, v. 13, p. 586, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics13070586>.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Surtos de doenças transmitidas por alimentos no Brasil. Brasília, 2024.

MARE, A. D. et al. Enteropathogenic *Escherichia coli*—A summary of the literature. *Gastroenterol. Insights*, v. 12, p. 28–40, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/gastroent12010004>.

ORSI, H. et al. Characterization of mammary pathogenic *Escherichia coli* reveals the diversity of *Escherichia coli* isolates associated with bovine clinical mastitis in Brazil. *J. Dairy Sci.*, v. 106, n. 2, p. 1403-1413, 2023. DOI: <https://dx.doi.org/10.3168/jds.2022-22126>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Antimicrobial resistance. 2023. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Atualiza lista de bactérias resistentes mais ameaçadoras para a saúde humana. 2024. Available at: <https://www.who.int/es/news/item/17-05-2024-who-updates-list-of-drug-resistant-bacteria-most-threatening-to-human-health>.

CHOWDHURY, S. et al. Antibiotic usage and resistance in food animal production: what have we learned from Bangladesh? *Antibiotics*, v. 10, p. 1032, 2021.

ISO 6579-1. Microbiology of the food chain-Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella*-Part 1: Detection of *Salmonella* spp. 2017.

ISO 7251. Microbiology of food and animal feeding stuffs-Detection and enumeration of presumptive *Escherichia coli*—Most probable number technique. 2005.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE - CLSI. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals; approved standards. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2023.

SAMBROOK, JOSEPH; RUSSELL, DAVID W. Molecular Cloning-Sambrook & Russel-Vol. 1, 2, 3. Cold Springs Harbor Lab Press: Long Island, NY, USA, 2001.

RAHN, K. et al. Amplification of an *invA* gene sequence of *Salmonella typhimurium* by polymerase chain reaction as a specific method of detection of *Salmonella*. *Molecular and Cellular Probes*, v. 6, n. 4, p. 271-279, 1992.

TOMA, C. et al. Multiplex PCR assay for identification of human diarrheagenic *Escherichia coli*. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 41, n. 6, p. 2669-2671, 2003.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Instrução Normativa nº 313, de 4 de setembro de 2024. Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos. Brasília, DF: Diário Oficial da União, 2024.

SANTOS I. F. Doenças Veiculadas por Alimentos e a Higiene dos Produtos de Origem Animal. Implicações na Saúde Coletiva. v.1 p. 57 a 80, 2023.

LOPES L.C., et al. Boas práticas de fabricação: treinamento aplicado aos manipuladores de alimentos de restaurante universitário. *Brazilian Journal of Development*. 2020.

THUNG, T. Y. et al. Evaluation of a lytic bacteriophage for biocontrol of *Salmonella Typhimurium* in different food matrices. *LWT*, v. 105, p. 211–214, 2019.

NONG, F. et al. Characterization of Shiga-toxin producing *Escherichia coli* (STEC) isolated from retail raw meats in Southeast China. *Food Control*, 2021.

SHEN, J. et al. Prevalence, antimicrobial resistance, and whole genome sequencing analysis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) from imported foods in China during 2015–2021. *Toxins*, v. 14, n. 2, p. 68, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins14020068>.

ZHOU, Y. et al. Characteristics of diarrheagenic *Escherichia coli* among children under 5 years of age with acute diarrhea: a hospital-based study. *BMC Infectious Diseases*, v. 18, p. 63, 2018.

4 Considerações Finais

O presente estudo revela o alto risco aos consumidores devido à veiculação de bactérias patogênicas multirresistentes em linguças coloniais vendidas em feiras livres de Pelotas, RS. Por ser um produto que é vendido pronto para o consumo, o risco de contaminação ao consumi-lo aumenta, visto que não passará por nenhum processo de cozimento. A venda de forma irresponsável, não seguindo a legislação vigente e não prezando pela higiene durante todo o processo de fabricação do produto até sua venda, prejudica sua qualidade microbiológica. A presença destes microrganismos nestes produtos, representa uma séria ameaça à saúde pública, aumentando a veiculação desses patógenos entre a população. Portanto, estudos como estes demonstram que pode haver falhas na produção desses alimentos, ou também na sua venda, onde está ocorrendo a contaminação do produto com esses patógenos, ressalta também, a importância de uma produção e venda responsável, respeitando as boas práticas de fabricação e higiene, diminuindo assim, o risco de disseminação desses microrganismos em alimentos. Juntamente com esse trabalho, foi realizada a produção de uma cartilha de boas práticas para feirantes, com o intuito de elucidar o assunto para esses vendedores e um guia ilustrado de embutidos, para o melhor entendimento de seus produtos que estão à venda que podem ser encontrados em <https://wp.ufpel.edu.br/inspleite/>.

5 Referências

ALEXANDER, H. K. et al. Stochastic bacterial population dynamics restrict the establishment of antibiotic resistance from single cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)**, v. 117, p. 19455–19464, 2020.

ANTUNES, P. et al. Salmonellosis: The role of poultry meat. **Clinical Microbiology and Infection**, Portugal, v. 22, n. 2, p. 110–121, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2015.12.004>. Acesso em: 4 fev. 2025.

ARAIS, L. R. et al. Zoonotic potential of atypical enteropathogenic Escherichia coli (aEPEC) isolated from puppies with diarrhoea in Brazil. **Veterinary Microbiology**, v. 227, n. December, p. 45–51, 2018.

BARROS, V. R. M. Salmonella spp: sua transmissão através dos alimentos. **Higiene Alimentar**, v. 16, n. 94, p. 15-19, 2002.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Instrução Normativa nº 313, de 4 de setembro de 2024. Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos. Brasília, DF: **Diário Oficial da União**, 2024.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 22 de 31 de julho de 2000. Anexo V. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Salame. Anexo XIV. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Linguiça Colonial. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 3 ago. 2000.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Salmonelas**. Brasília, 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/pnsa/salmonelas>. Acesso em: 24 jan. 2025.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual integrado de vigilância, prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos. Brasília: **Editora do Ministério da Saúde**, 2010. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/svsa/doencas->

[diarreicas-agudas/manual-integrado-de-vigilancia-e-controle-de-doencas-transmitidas-por-alimentos.pdf/view](#). Acesso em: 29 jan. 2025.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Vigilância Epidemiológica das Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar: Manual de treinamento. Brasília: **Editora do Ministério da Saúde**, 2021. Disponível em: https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/svsa/doencas-transmitidas-por-alimentos-dta/manual_dtha_2021_web.pdf. Acesso em: 29 jan. 2025.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Surtos de doenças transmitidas por alimentos no Brasil. Brasília, 2024.

CENTRO DE CONTROLE E PREVENÇÃO DE DOENÇAS (CDC). Advice to Clinicians | Multistate Outbreak of Salmonella Infections Linked to Raw Chicken Products. Estados Unidos, 2019. Disponível em: <https://www.cdc.gov/salmonella/infantis-10-18/advice.html>. Acesso em: 25 jan. 2025.

CENTRO DE CONTROLE E PREVENÇÃO DE DOENÇAS (CDC). Salmonella and Food. Estados Unidos, 2020. Disponível em: <https://www.cdc.gov/features/salmonella-food/index.html>. Acesso em: 11 jan. 2025.

CHLEBICZ, A.; SLIZEWSKA, K. Campylobacteriosis, Salmonellosis, Yersiniosis, and Listeriosis as zoonotic foodborne diseases: a review. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 15, p. 863, 2018. DOI: 10.3390/ijerph15050863.

CLIFFORD, K. et al. Antimicrobial resistance in livestock and poor quality veterinary medicines. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 96, p. 662–664, 2018.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). Produção de carnes ultrapassa 31 milhões de toneladas em 2024 e atinge novo recorde na série histórica. **Conab**, Brasília, 27 jan. 2025. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/5906-producao-de-carnes-ultrapassa-31-milhoes-de-toneladas-em-2024-e-atinge-novo-recorde-na-serie-historica>. Acesso em: 1 fev. 2025.

DE OLIVEIRA, P. O. et al. Revisão: Implantação das boas práticas de fabricação na indústria Brasileira de alimentos. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 1, p. e35810111687-e35810111687, 2021.

FACELLITATE. Diferentes tipos de técnicas de PCR en biología molecular. Disponível em: <https://facellitate.com/es/different-types-of-pcr-techniques-in-molecular-biology/>. Acesso em: 2 fev. 2025.

FAÚLA, L. L. et al. Panorama dos surtos de doenças de transmissão alimentar ocorridos em Minas Gerais, Brasil, no período de 2010 a 2014. **Gerais: Revista de Saúde Pública do SUS/MG**, v. 3, n. 1, p. 84-94, 2015.

FERRARI, R. G. et al. Worldwide epidemiology of Salmonella serovars in animal-based foods: a meta-analysis. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 85, n. 14, p. 1-21, 2019.

GOMES, T. A. T. et al. Diarrheagenic Escherichia coli. Brazilian Journal of Microbiology, [S. l.], v. 47, p. 3-30, dez. 2016. **Springer Science and Business Media LLC**. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjm.2016.10.015>. Acesso em: 4 fev. 2025.

GOMES, T. A. T. et al. Diarrheagenic Escherichia coli. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, p. 3–30, 2016.

HENNING, K. et al. Avaliação físico-química, microbiológica e perfil de resistência bacteriana em embutidos cárneos fermentados produzidos em Francisco Beltrão, Paraná. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, Viçosa, v. 11, n. 1, p. 413-423, dez. 2021. Disponível em: <https://periodicos.ufv.br/rbas/article/view/12852>. Acesso em: 1 fev. 2025.

ISO 6579-1. Microbiology of the food chain-Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of Salmonella-Part 1: Detection of Salmonella spp. 2017.

ISO 7251. Microbiology of food and animal feeding stuffs-Detection and enumeration of presumptive Escherichia coli—Most probable number technique. 2005.

KIM, J. S.; LEE, M. S.; KIM, J. H. Recent updates on outbreaks of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and its potential reservoirs. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 10, p. 273, 2020.

MARQUES, G. et al. Resistência bacteriana na medicina veterinária e implicações com a saúde pública. **Veterinária e Zootecnia**, [S. l.], p. 1-12, 17 ago. 2023. Disponível em: <https://rvz.emnuvens.com.br/rvz/article/view/1367>. Acesso em: 27 jan. 2025.

MELO, E. S. et al. Doenças transmitidas por alimentos e principais agentes bacterianos envolvidos em surtos no Brasil. **PUBVET**, v. 12, n. 10, p. 1–9, 2018.

MENDES, A. M.; RIBEIRO, L. F. O controle microbiológico da qualidade de alimentos. **PUBVET**, v. 15, p. 162, 2021.

MONTE, D. F. M. et al. Whole-genome sequencing analysis and CRISPR genotyping of rare antibiotic-resistant *Salmonella enterica* serovars isolated from food and related sources. **Food Microbiology**, v. 93, 2021.

MOURA, R. A. et al. Clonal relationship among atypical enteropathogenic *Escherichia coli* strains isolated from different animal species and humans. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 75, n. 23, p. 7399–7408, 2009.

MUNARI, T. B. Condições higienicossanitárias na produção de embutidos cárneos em um frigorífico localizado na região de Criciúma - SC. **Higiene Alimentar**, [S. l.], v. 30, n. 254/255, p. 70-73, abr. 2016.

NASCIMENTO, M. S. G. do et al. Importância do controle microbiológico de alimentos. In: OPEN SCIENCE RESEARCH XI. **Editora Científica Digital**, 2023. p. 25-33. DOI: 10.37885/230412820. Disponível em: <https://www.editoracientifica.com.br/books/chapter/a-importancia-do-controle-microbiologico-de-alimentos>. Acesso em: 4 fev. 2025.

OPENSTAX COLLEGE. **Biology. Biotechnology. OpenStax**, CNX, 2016. Disponível em: http://cnx.org/contents/GFy_h8cu@10.8:exg4e4AU@7/Biotechnology. Acesso em: 4 fev. 2025.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Antimicrobial resistance. 2023. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>. Acesso em: 4 fev. 2025.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Atualiza lista de bactérias resistentes mais ameaçadoras para a saúde humana. 2024. Disponível em: <https://www.who.int/es/news/item/17-05-2024-who-updates-list-of-drug-resistant-bacteria-most-threatening-to-human-health>. Acesso em: 4 fev. 2025.

PARK, J. H. et al. Diarrheal outbreak caused by atypical enteropathogenic *Escherichia coli* O157:H45 in South Korea. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 11, p. 775-781, 2014.

PAVELQUESI, S. L. S. et al. Qualidade microbiológica de linguiças de frango do tipo frescal comercializadas no Distrito Federal, Brasil. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 15, n. 1, p. 1-12, 2021.

PRATI, P.; HENRIQUE, C. M. A interferência da praticidade e da conveniência na industrialização de alimentos. **Pesquisa & Tecnologia, [S. l.]**, v. 14, n. 1, p. 1-5, jun. 2017.

PREFEITURA MUNICIPAL DE PELOTAS. Decreto municipal nº 6124 – Regulamenta as feiras livres em Pelotas. Pelotas, 29 out. 2018. Disponível em: <https://leismunicipais.com.br/a/rs/p/pelotas/decreto/2018/613/6124/>. Acesso em: 19 jan. 2025.

RAHMAN, M. T. et al. Zoonotic diseases: etiology, impact, and control. *Microorganisms*, v. 8, p. 1405, 2020.

RAHN, K. et al. Amplification of an *invA* gene sequence of *Salmonella typhimurium* by polymerase chain reaction as a specific method of detection of *Salmonella*. **Molecular and Cellular Probes**, v. 6, n. 4, p. 271-279, 1992.

REDAÇÃO TECNOCARNE. O que são alimentos embutidos? Entenda como são feitos e quais legislações seguir para comercializar. **Food Connection**, 15 out. 2024. Disponível em: <https://www.foodconnection.com.br/artigos/o-que-sao-alimentos-embutidos-entenda-como-sao-feitos-e-quais-legislacoes-seguir/>. Acesso em: 4 fev. 2025.

ROBINS-BROWNE, R. M. et al. Are *Escherichia coli* pathotypes still relevant in the era of whole-genome sequencing? **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 6, p. 14, 2016.

SANTOS, I. F. dos. Doenças veiculadas por alimentos e a higiene dos produtos de origem animal: implicações na saúde coletiva. **Niterói: Eduff**, 2024.

SANTOS, L. R. et al. Identificação de Salmonella através da reação em cadeia pela polimerase (PCR). **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v. 29, p. 87-92, 2001.

SINGH, P. et al. Characterization of enteropathogenic and Shiga toxin-producing Escherichia coli in cattle and deer in a shared agroecosystem. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 5, p. 29, 2015.

SIRTOLI, D. B.; COMARELLA, L. O papel da vigilância sanitária na prevenção das doenças transmitidas por alimentos (DTA). **Revista Saúde e Desenvolvimento**, v. 12, n. 10, p. 197–209, 2018.

SOUZA, B. M. S. Processamento tecnológico e inspeção sanitária de produtos de origem animal. Curitiba: **Medvep**, 2019. 184 p.

TOMA, C. et al. Multiplex PCR assay for identification of human diarrheagenic Escherichia coli. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, n. 6, p. 2669-2671, 2003.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. Microbiologia. 6. ed. São Paulo: **Atheneu**, 2015.

YEHIA, H. M. et al. invA gene to detect Salmonella enterica serovar Typhimurium supported by serum anti-Salmonella antibodies and protein profiles for chicken carcass isolates. 2020. Disponível em: <https://www.researchsquare.com/article/rs-87131/v1>. Acesso em: 2 fev. 2025.

ZSCHÖCK, M. et al. Evaluation of tRNA intergenic spacer length polymorphism analysis as a molecular method for species identification of streptococcal isolates from bovine mastitis. **Journal of Dairy Research**, v. 72, p. 333-337, 2005.