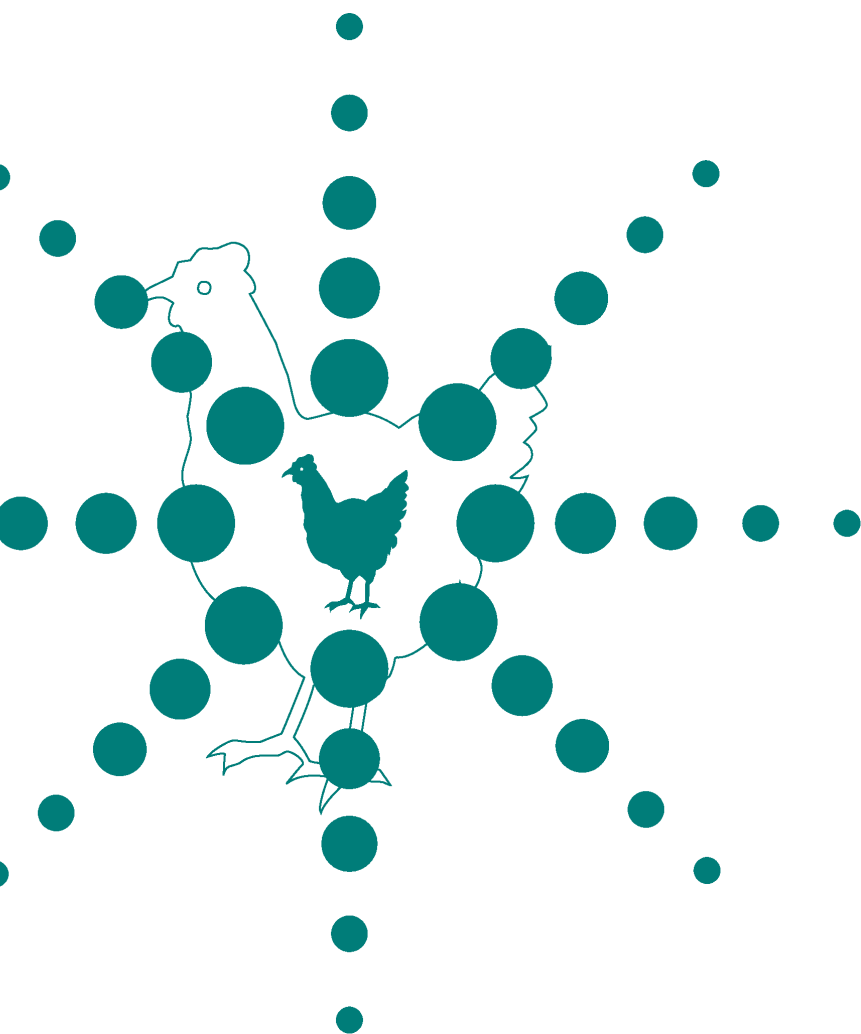


RELATÓRIO DO MONITORAMENTO DA PREVALÊNCIA E DO PERFIL
DE SUSCETIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS EM ENTEROCOCOS
E SALMONELAS ISOLADOS DE CARÇAÇAS DE FRANGO CONGELADAS
COMERCIALIZADAS NO BRASIL

PROGRAMA NACIONAL DE MONITORAMENTO DA PREVALÊNCIA E DA RESISTÊNCIA
BACTERIANA EM FRANGO - PREBAF





RELATÓRIO DE PESQUISA EM VIGILÂNCIA SANITÁRIA DE ALIMENTOS

Monitoramento da prevalência e do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos em enterococos e salmonelas isolados de carcaças de frango congeladas comercializadas no Brasil

PROGRAMA NACIONAL DE MONITORAMENTO DA PREVALÊNCIA E DA
RESISTÊNCIA BACTERIANA EM FRANGO - PREBAF

Copyright © 2008. Agência Nacional de Vigilância Sanitária

É permitida a reprodução total ou parcial desta obra, desde que citada a fonte.

1º edição

Diretor-Presidente

Dirceu Raposo de Mello

Adjunto de Diretor-Presidente

Norberto Rech

Diretores

Cláudio Maierovitch P. Henriques

Maria Cecília Martins Brito

José Agenor Álvares da Silva

Agnelo Santos Queiroz Filho

Chefe de Gabinete

Alúdimá de Fátima Oliveira Mendes

Coordenação Geral do PREBAF

Gerencia-Geral de Alimentos:

Cleber Ferreira dos Santos (até agosto de 2006)

Denise de Oliveira Resende (após setembro de 2006)

Gerente de Ações de Ciência e Tecnologia de Alimentos

Lucas Medeiros Dantas

Gerente de Produtos Especiais

Antonia Maria de Aquino

Gerente de Inspeção e Controle de Risco de Alimentos

Diana Carmem Almeida Nunes de Oliveira

Coordenação Técnica do PREBAF:

1. Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde – INCQS/FIOCRUZ (até abril/2005)

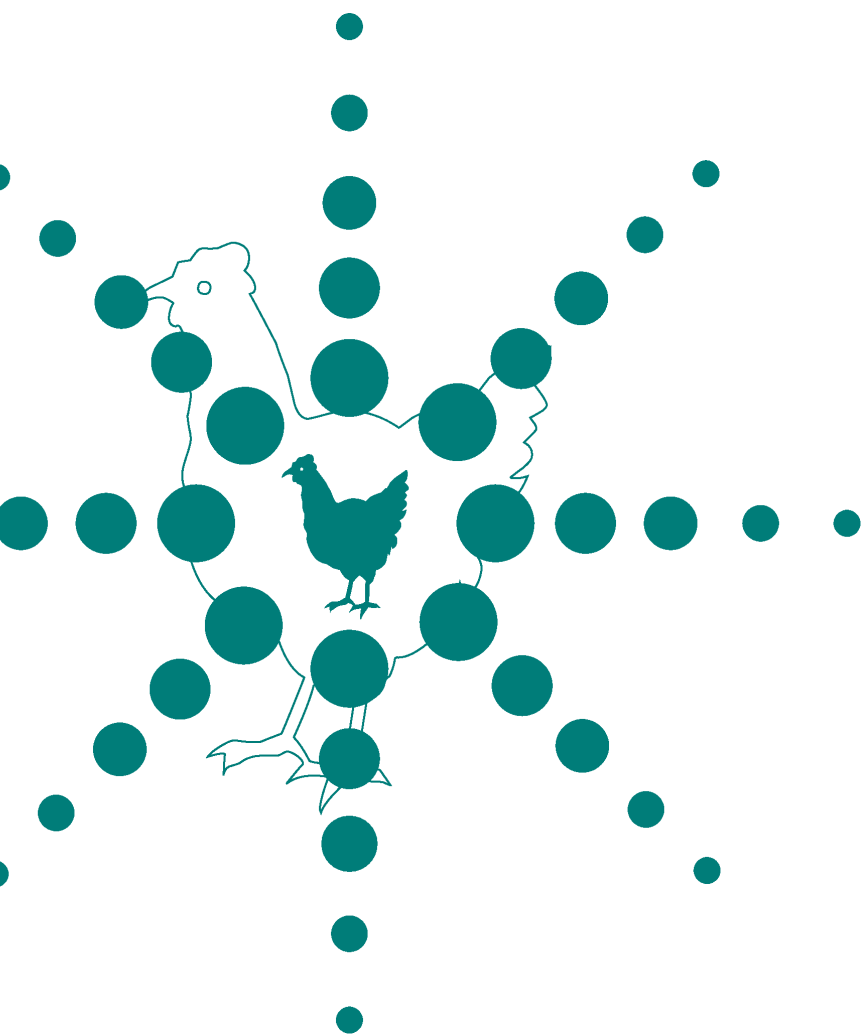
2. Gerência Geral de Laboratórios de Saúde Pública/ANVISA (a partir de maio/2005)

Assessoria de Divulgação e Comunicação Institucional

Assessora-Chefe: Pedro Ivo Sebba Ramalho

Projeto gráfico e diagramação

Camila Medeiros



RELATÓRIO DE PESQUISA EM VIGILÂNCIA SANITÁRIA DE ALIMENTOS

Monitoramento da prevalência e do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos em enterococos e salmonelas isolados de carcaças de frango congeladas comercializadas no Brasil

PROGRAMA NACIONAL DE MONITORAMENTO DA PREVALÊNCIA E DA
RESISTÊNCIA BACTERIANA EM FRANGO - PREBAF

APRESENTAÇÃO

O presente relatório foi elaborado pela Gerência Geral de Alimentos – GGALI/ANVISA que contou com a colaboração de especialistas da Gerência Geral de Laboratórios de Saúde Pública – GGLAS/ANVISA, do Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz - IOC/FIOCRUZ e do Instituto Adolfo Lutz - IAL/SP, em sua redação. O documento aborda diversos aspectos de análise de risco no contexto do Programa Nacional de Monitoramento da Prevalência e da Resistência Bacteriana em Frango – PREBAF, implementado entre 2004 e 2006 numa exitosa parceria com as Vigilâncias Sanitárias Estaduais e Laboratórios Centrais de Saúde Pública de vários estados, como parte do conjunto de estratégias de ação definidas pela ANVISA para a área de alimentos.

Incumbe à ANVISA, por Lei, regulamentar, controlar e fiscalizar os produtos e serviços que envolvam risco à saúde pública, tais como alimentos, inclusive bebidas, águas envasadas, seus insumos, suas embalagens, aditivos alimentares, limites de contaminantes orgânicos, resíduos de agrotóxicos e de medicamentos veterinários. Estes últimos, em especial os antimicrobianos, quando usados em animais de produção de alimentos com fins terapêuticos, profiláticos ou como aditivos nas rações, passam a ser alvo de avaliação de risco em todo o mundo, tanto pelos resíduos dessas substâncias que podem ficar nos produtos de consumo, como pela possibilidade do seu uso vir contribuir para a disseminação da resistência microbiana.

O Codex Alimentarius, organismo formado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) e pela Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO), principal referência internacional em normas sobre segurança de alimentos, tem encorajado os países membros, a exemplo do Brasil, a desenvolverem programas de vigilância e controle sobre o tema acima, num esforço mundial para reduzir a resistência microbiana aos antimicrobianos, tanto na medicina veterinária quanto humana. Dada a relevância do assunto, em 2005 foi aprovado pela Comissão do Codex Alimentarius um “Código de Práticas para Minimizar e Conter a Resistência Antimicrobiana”, alertando-se para as responsabilidades específicas que têm a indústria farmacêutica, produtores, distribuidores, autoridades regulatórias e profissionais que atuam como responsáveis técnicos.

Nesse contexto um passo importante foi dado com a implementação do PREBAF a partir de amostras de carcaças congeladas de frango colhidas no comércio, com uma cobertura significativa em relação as áreas de produção e consumo do alimento em questão. Nele foram gerados dados de pesquisa em vigilância sanitária até então inexistentes e suas conclusões e recomendações apontam para a necessidade de mais aporte de recursos da Agência, visando replicar o monitoramento de enterococos e salmonelas com um novo enfoque e estender a pesquisa para outras bactérias com forte envolvimento em contaminações microbiológicas de alimentos, como *Campylobacter* e *Listerias*.

Maria Cecília Martins Brito
Diretora da ANVISA



RESUMO

Este é um documento técnico-científico que apresenta não só o resultado de uma ação planejada de monitoramento em vigilância sanitária relacionada ao risco microbiológico atribuído ao consumo de frango, como também uma abordagem sobre o problema da resistência microbiana traduzida em uma pesquisa sobre o perfil de resistência de *Salmonella* sp e *Enterococcus* sp a vários antimicrobianos utilizados na atividade avícola. Essas duas bactérias, são consideradas, dentre outras, como de eleição para programas de vigilância e monitoramento sobre o tema.

Esse trabalho é uma apresentação do PREBAF em toda a sua dimensão, cuja implementação se deu em etapas, ou seja: Etapa 1: Definição das metodologias ou dos Procedimentos Operacionais Padrão (POPs); Etapa 2: Elaboração do Manual de Procedimentos; Etapa 3: Treinamento de VISA e LACEN; Etapa 4: Colheita de amostras e análises laboratoriais; e Etapa 4: Relatório final. Durante o período de execução ocorreram várias avaliações parciais com a participação da equipe envolvida em todos os níveis.

Antes de expor as informações detalhadas sobre o PREBAF e seus resultados, o relatório aborda a contextualização técnica das características gerais e epidemiológicas de *Salmonella* e *Enterococcus*, seus mecanismos de resistência antimicrobiana e as consequências para a saúde humana.

Carcaças de frango congeladas coletadas no comércio foram definidas como matriz de análise. Outro aspecto abordado pelo trabalho foi a verificação da adequação da rotulagem de frango em relação à Resolução RDC n°. 13, de 02/01/01. Os resultados apresentados indicam baixa prevalência de *Salmonella*, alta prevalência de *Enterococcus*, ocorrência de resistência dessas bactérias a vários antimicrobianos e que a maioria dos estabelecimentos produtores já se adequaram à rotulagem.

O estudo foi conduzido em 14 Estados, em um total de 2.710 unidades amostrais de frango analisadas no período de 2004 a 2006, e traça um perfil preliminar da resistência bacteriana aos antimicrobianos utilizados na produção de frango. Em relação à *Salmonella*, foi encontrada a prevalência média de 3,03%. O total de 250 cepas foi submetido à análise de caracterização antigênica, chegando-se a 18 sorovales isolados, destacando-se maior frequência para *S. Enteritidis* em 48,8% das cepas, seguido de *S. Infantis* (7,6%), *S. Typhimurium* (7,2%), *S. Heidelberg* (6,4%), *S. Mbandaka* (4,8%) e 15 (5,2%) cepas caracterizadas como *Salmonella* sp.

Quanto a *Enterococcus*, 98,7% amostras foram positivas para esta bactéria e o total de 8.188 colônias foi submetido à análise de identificação de espécie e do perfil de resistência. Entre as diferentes espécies já descritas no gênero *Enterococcus*, doze delas puderam ser identificadas entre colônias caracterizadas. Contudo, pode-se observar que houve predominância de quatro espécies, uniformemente distribuídas entre as cinco regiões: *E. faecalis* (61,4%), *E. gallinarum* (28,7%), *E. casseliflavus* (5,06%) e *E. faecium* (2,2). Foram avaliadas 262 amostras quanto ao perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos, encontrando-se vários níveis de resistência a alguns antibióticos de importância na medicina humana.



LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
DTA	Doenças Transmitidas por Alimentos
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
g/T	gramas/ tonelada
IAL	Instituto Adolfo Lutz
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IOC	Instituto Oswaldo Cruz
LACEN	Laboratórios Centrais de Saúde Pública
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento OMS – Organização Mundial de Saúde
MIC	Concentração Inibitória Mínima (CIM)
OIE	Organização Mundial para Saúde Animal (antiga Organização Internacional de Epizootias)
PBP	Proteínas ligadoras de penicilina
POF	Pesquisa de Orçamentos Familiares
RDC	Resolução de Diretoria Colegiada
TGI	Trato gastrointestinal
UF	Unidades Federadas
UFC/g	Unidade Formadora de Colônia/ grama
VISA	Vigilâncias Sanitárias Estaduais
VRE	Vancomycin-resistant Enterococci



SUMÁRIO

Apresentação	7
Resumo	9
Lista de Abreviaturas	11
Introdução	19
Parte I	
Características Gerais e Epidemiologia de <i>Salmonella</i> e <i>Enterococcus</i>	21
I. GÊNERO <i>SALMONELLA</i>	21
1. CARACTERÍSTICAS GERAIS, NOMENCLATURA E CLASSIFICAÇÃO:	21
2. HABITAT NATURAL	22
3. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E PATOGENIA	23
4. <i>SALMONELLA</i> EM ALIMENTOS	23
II. GÊNERO <i>ENTEROCOCCUS</i>	25
1. CARACTERÍSTICAS GERAIS, NOMENCLATURA E CLASSIFICAÇÃO	25
2. HABITAT NATURAL	28
3. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E PATOGENIA	29
4. ENTEROCOCOS NOS ALIMENTOS	30
III. RESISTÊNCIA MICROBIANA	31
1. CARACTERÍSTICAS GERAIS E CONCEITOS	31
2. MECANISMOS DE RESISTÊNCIA	32
3. CONSEQÜÊNCIAS PARA A SAÚDE HUMANA	32
4. <i>SALMONELLA</i> E RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS	33
5. <i>ENTEROCOCCUS</i> E RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS	35
Parte II	
Programa Nacional de Monitoramento da Prevalência e da Resistência Bacteriana em Frango – PREBAF ...	41
1. HISTÓRICO	41
2. INFORMAÇÕES TÉCNICAS	42
3. OBJETIVOS	42
3.1 Geral	42
3.2 Específicos	42
4. MATERIAL E MÉTODOS	43
4.1 Plano amostral	43
4.1.1 Cobertura e período de execução	43
4.1.2 Número e tipo de amostras	44
4.2 Procedimentos de Amostragem e de Análise	44
4.3 Plano de Análise de Salmonela	46
4.3.1 Recepção das cepas, reisolamento e identificação bioquímica	46
4.3.2 Caracterização antigênica	47
4.3.3 Fagotipagem	47
4.3.4 Perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos	47
4.4 Plano de Análise de Enterococos	47
4.4.1 Recebimento das amostras	47
4.4.2 Identificação	47
4.4.3 Ensaio de determinação	47
4.4.4 Caracterização genética	48
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
5.1 Situação Extraída dos Relatórios dos Estados (Visa e Lacen)	48
5.1.1 Alagoas	48
5.1.2 Amapá	50
5.1.3 Ceará	53
5.1.4 Distrito Federal	55
5.1.5 Espírito Santo	57
5.1.6 Goiás	59
5.1.7 Mato Grosso do Sul	61
5.1.8 Minas Gerais	63



5.1.9 Paraná.....	65
5.1.10 Rio de Janeiro.....	67
5.1.11 Rio Grande do Norte.....	69
5.1.12 Rio Grande do Sul.....	71
5.1.13 Santa Catarina.....	74
5.1.14 São Paulo - Capital.....	76
5.1.15 São Paulo – Ribeirão Preto.....	78
5.2. RESULTADO CONSOLIDADO DOS ESTADOS (VISA e LACEN).....	80
5.3 ANÁLISES ESPECÍFICAS REALIZADAS PELOS LABORATÓRIOS	
DE REFERÊNCIA - IOC E IAL/SP.....	89
5.3.1 <i>Salmonella spp.</i>	89
5.3.2 <i>Enterococcus sp.</i>	95
6. CONCLUSÕES.....	107
7. RECOMENDAÇÕES.....	108
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	111

FIGURAS

Figura 1: N° laudos enviados pelas Visa's para a Anvisa – PREBAF.....	81
Figura 2: Número de marcas produzidas no estado e avaliadas – PREBAF.....	82
Figura 3: Número de marcas comercializadas nos Estados e avaliadas.....	83
Figura 4: Análise dos dizeres de rotulagem de acordo com a RDC n° 13/2001.....	84
Figura 5: Resultados de notificações sobre rotulagem - PREBAF.....	85
Figura 6: Presença e ausência de Enterococos em meio com vancomicina em amostras de frango colhidas nos Estados.....	86
Figura 7: Presença e ausência de Enterococos em meio com vancomicina em amostras de frango colhidas nos Estados.....	87
Figura 8: Presença e ausência de <i>Salmonella spp</i> detectadas nas amostras coletadas.....	88
Figura 9: Distribuição e freqüência dos diferentes sorovares de <i>Salmonella</i>	90
Figura 10: Freqüência dos fagotipos de <i>S. Enteritidis</i> e <i>S. Typhimurium</i>	91
Figura 11: Distribuição do total de cepas de <i>Salmonella spp.</i> de acordo com a resistência a diferentes classes de drogas.....	92
Figura 12: Distribuição dos sorovares multirresistentes de <i>Salmonella</i> a diferentes classes de antimicrobianos.....	93
Figura 13: Freqüência e distribuição dos marcadores de resistência nas 250 cepas de <i>Salmonella</i> no período de 2004 a 2006.....	94
Figura 14: N° de colônias de enterococos recebidas por estado participante - IAL 2004 - 2006 - PREBAF 2007.....	96
Figura 15: Perfil de suscetibilidade de 2.135 colônias de <i>Enterococcus sp.</i>	101
Figura 16: Perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos de 1.630 colônias de <i>Enterococcus spp</i> excluindo as espécies que apresentam resistência intrínseca para vancomicina (<i>E. gallinarum</i> e <i>E. Casseliflavus</i>).....	102
Figura 17: Perfil de suscetibilidade antimicrobiana de 506 colônias de <i>E. gallinarum</i> e <i>E. casseliflavus</i>	103



QUADROS

Quadro 1. Distribuição do número de sorovares de <i>Salmonella</i> de acordo com a espécie.....	21
Quadro 2. Características bioquímicas utilizadas na diferenciação de subespécies de <i>S. bongori</i> e <i>S. subterranea</i>	22
Quadro 3. Características fenotípicas utilizadas para a identificação presuntiva de <i>Enterococcus</i> e gêneros relacionados	27
Quadro 4. Características fenotípicas utilizadas para a identificação das espécies de <i>Enterococcus</i> e gêneros relacionados	28
Quadro 5. Número de amostras em função da prevalência de resistência esperada na população	44
Quadro 6. Distribuição e freqüência dos diferentes sorovares de <i>Salmonella</i>	89
Quadro 7. Freqüência dos fagotipos de <i>S. Enteritidis</i> e <i>S. Typhimurium</i>	90
Quadro 8. Distribuição do total de cepas de <i>Salmonella</i> spp. de acordo com a resistência a diferentes classes de drogas.....	91
Quadro 9. Distribuição dos sorovares multirresistentes de <i>Salmonella</i> a diferentes classes de antimicrobianos.	93
Quadro 10. Freqüência e distribuição dos marcos de resistência nas 250 cepas de <i>Salmonella</i> no período de 2004 a 2006.....	94
Quadro 11: Distribuição do perfil de suscetibilidade de 2.135 colônias de <i>Enterococcus</i> sp - PREBAF 2007.	100
Quadro 12: Perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos de 1.630 colônias de <i>Enterococcus</i> spp excluindo as espécies que apresentam resistência intrínseca para vancomicina (<i>E. gallinarum</i> e <i>E. Casseliflavus</i>).....	101
Quadro 13: Perfil de suscetibilidade antimicrobiana de 506 colônias de <i>E. gallinarum</i> e <i>E. casseliflavus</i>	102
Quadro 14: Distribuição do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos das principais espécies de <i>Enterococcus</i> identificadas.....	103
Quadro 14a: Distribuição do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos das principais espécies de <i>Enterococcus</i> identificadas (continuação).....	104
Quadro 14b: Distribuição do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos das principais espécies de <i>Enterococcus</i> identificadas (continuação).....	104
Quadro 15: Distribuição do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos das principais espécies de <i>Enterococcus</i> identificadas, por estado.....	104
Quadro 15a: Distribuição do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos das principais espécies de <i>Enterococcus</i> identificadas, por estado (continuação).....	105
Quadro 15b: Distribuição do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos das principais espécies de <i>Enterococcus</i> identificadas, por estado (continuação).....	106



TABELAS

Tabela 1: ESTADO: ALAGOAS – VARIÁVEL AVALIADA – <i>SALMONELLA</i>	48
Tabela 2: ESTADO: ALAGOAS – VARIÁVEL AVALIADA: <i>ENTEROCOCCUS</i>	49
Tabela 3: ESTADO: AMAPÁ - VARIÁVEL AVALIADA – <i>SALMONELLA</i>	50
Tabela 4: ESTADO: AMAPÁ – VARIÁVEL AVALIADA: <i>ENTEROCOCCUS</i>	52
Tabela 5: ESTADO: CEARÁ - VARIÁVEL AVALIADA - <i>SALMONELLA</i>	53
Tabela 6: ESTADO: CEARÁ - VARIÁVEL AVALIADA - <i>ENTEROCOCCUS</i>	54
Tabela 7: DISTRITO FEDERAL - VARIÁVEL AVALIADA - <i>SALMONELLA</i>	55
Tabela 8: DISTRITO FEDERAL - VARIÁVEL AVALIADA - <i>ENTEROCOCCUS</i>	56
Tabela 9: ESTADO: ESPÍRITO SANTO - VARIÁVEL AVALIADA - <i>SALMONELLA</i>	57
Tabela 10: ESTADO: ESPÍRITO SANTO - VARIÁVEL AVALIADA - <i>ENTEROCOCCUS</i>	58
Tabela 11: ESTADO: GOIÁS - VARIÁVEL AVALIADA - <i>SALMONELLA</i>	59
Tabela 12: ESTADO: GOIÁS - VARIÁVEL AVALIADA - <i>ENTEROCOCCUS</i>	60
Tabela 13: ESTADO: MATO GROSSO DO SUL - VARIÁVEL AVALIADA - <i>SALMONELLA</i>	61
Tabela 14: ESTADO: MATO GROSSO DO SUL - VARIÁVEL AVALIADA - <i>ENTEROCOCCUS</i>	62
Tabela 15: ESTADO: MINAS GERAIS - VARIÁVEL AVALIADA - <i>SALMONELLA</i>	63
Tabela 16: ESTADO: MINAS GERAIS - VARIÁVEL AVALIADA - <i>ENTEROCOCCUS</i>	64
Tabela 17: ESTADO: PARANÁ - VARIÁVEL AVALIADA - <i>SALMONELLA</i>	65
Tabela 18: ESTADO: PARANÁ - VARIÁVEL AVALIADA - <i>ENTEROCOCCUS</i>	66
Tabela 19: ESTADO: RIO DE JANEIRO - VARIÁVEL AVALIADA - <i>SALMONELLA</i>	67
Tabela 20: ESTADO: RIO DE JANEIRO - VARIÁVEL AVALIADA - <i>ENTEROCOCCUS</i>	68
Tabela 21: ESTADO: RIO GRANDE DO NORTE - VARIÁVEL AVALIADA - <i>SALMONELLA</i>	69
Tabela 22: ESTADO: RIO GRANDE DO NORTE - VARIÁVEL AVALIADA - <i>ENTEROCOCCUS</i>	70
Tabela 23: ESTADO: RIO GRANDE DO SUL - VARIÁVEL AVALIADA - <i>SALMONELLA</i>	71
Tabela 24: ESTADO: RIO GRANDE DO SUL - VARIÁVEL AVALIADA - <i>ENTEROCOCCUS</i>	73
Tabela 25: ESTADO: SANTA CATARINA - VARIÁVEL AVALIADA - <i>SALMONELLA</i>	74
Tabela 26: ESTADO: SANTA CATARINA - VARIÁVEL AVALIADA - <i>ENTEROCOCCUS</i>	75
Tabela 27: ESTADO: SÃO PAULO (CAPITAL) - VARIÁVEL AVALIADA - <i>SALMONELLA</i>	76
Tabela 28: ESTADO: SÃO PAULO (CAPITAL) - VARIÁVEL AVALIADA - <i>ENTEROCOCCUS</i>	77
Tabela 29: ESTADO: SÃO PAULO: RIBEIRÃO PRETO - VARIÁVEL AVALIADA - <i>SALMONELLA</i>	78
Tabela 30: ESTADO: SÃO PAULO: RIBEIRÃO PRETO - VARIÁVEL AVALIADA – <i>ENTEROCOCCUS</i>	79
Tabela 31: Número de laudos e de unidades amostrais colhidas e analisadas.....	80
Tabela 32: Número de marcas de frango produzidas no estado e avaliadas - PREBAF.....	81
Tabela 33: Número de marcas comercializadas nos Estados e avaliadas – PREBAF.....	82
Tabela 34: Análise dos dizeres de rotulagem dos laudos encaminhados pelas Visa's à Anvisa - PREBAF.....	83
Tabela 35: Resultados de notificações sobre rotulagem - PREBAF (2004-2005-2006).....	84
Tabela 36: Presença e ausência de Enterococos em meios com vancomicina nas amostras coletadas.....	86
Tabela 37: Presença e ausência de Enterococos em meios sem vancomicina nas amostras coletadas.....	87
Tabela 38: Presença e ausência de <i>Salmonella</i> spp detectadas nas amostras coletadas.....	88
Tabela 39: Número de colônias do gênero <i>Enterococcus</i> recebidas pelo Instituto Adolfo Lutz, no período de 2004 a 2006.	95
Tabela 40: Distribuição das espécies do Gênero <i>Enterococcus</i> das amostras enviadas pelos Lacen ao IAL, no período de 2004 a 2006.	96
Tabela 41: Distribuição das espécies do Gênero <i>Enterococcus</i> das amostras enviadas pelos Lacen ao IAL, no período de 2004 a 2006 (continuação).....	97
Tabela 42: Distribuição das espécies do Gênero <i>Enterococcus</i> por região geográfica, recebidas no período de 2003 a 2006.....	97
Tabela 42a: Distribuição das espécies do Gênero <i>Enterococcus</i> por região geográfica, recebidas no período de 2004 a 2006 (continuação).....	98
Tabela 43: Distribuição do perfil de susceptibilidade antimicrobiana das 2.135 colônias de <i>Enterococcus</i> spp, considerando os Estados produtores de frango para consumo humano.	99
Tabela 43b: Distribuição do perfil de susceptibilidade antimicrobiana das 2.135 colônias de <i>Enterococcus</i> spp, considerando os Estados produtores de frango para consumo humano (continuação). ...	100



PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS PADRÃO

POP - 001 Colheita de carcaças congelada de frango	125
RECEPÇÃO E PROCESSAMENTO INICIAL DE AMOSTRAS DE CARCAÇAS CONGELADAS DE FRANGO E EMISSÃO DO LAUDO DE ANÁLISE 65.3210.043.....	127
PESQUISA E CONTAGEM DE <i>Salmonella</i> SP EM CARCAÇAS CONGELADAS DE FRANGO	135
DETECÇÃO DE ENTEROCOCOS EM CARCAÇAS DE FRANGO CONGELADAS.....	152
ASMI5-01 - MANUTENÇÃO DE CEPA DE ENTEROCOCO PARA SER ENVIADA AO LABORATÓRIO DE REFERÊNCIA	163
Transporte de substâncias infecciosas para o Laboratório de Referência (Território Nacional) PSMIB2-01	169
Encaminhamento das cepas de <i>Salmonella</i> spp, para caracterização antigênica e avaliação da suscetibilidade antimicrobiana	174



INTRODUÇÃO

Entre os patógenos que são reconhecidos pela OMS como os mais significativos em termos de impacto a saúde das populações e que podem ser utilizados como indicadores da qualidade dos alimentos estão incluídos as salmonelas, os enterococos, e os coliformes. Corroborando isso, organismos internacionais como a FAO, OMS, OIE e Codex Alimentarius, vêm discutindo amplamente o impacto à saúde pública resultante do uso de agentes antimicrobianos em animais de produção. Um exemplo foi a aprovação pela Comissão do Codex Alimentarius de um código internacional de práticas para minimizar e conter a resistência antimicrobiana¹. Esse documento traz diretrizes sobre o uso responsável e prudente dessa classe de medicamentos, bem como recomendações aos governos, encorajando-os a implantar seus próprios programas de monitoramento e vigilância ante à relevância do problema.

No Brasil são observadas flutuações na qualidade dos alimentos devido às dimensões continentais do país, que dificultam o amplo conhecimento sobre a circulação e o seu real impacto na disseminação de microrganismos patogênicos. Acrescenta-se ainda sua configuração geoclimática, a qual permite um amplo espectro de produção de alimentos de origem animal e vegetal, dificultando o conhecimento a respeito da veiculação de patógenos. Nessas circunstâncias, podem ocorrer situações de risco em virtude das complexas operações de transporte, armazenamento, comercialização e heterogeneidade das condições observadas em todas as regiões do país.

Entre os alimentos de origem animal, a produção de aves no Brasil ocupa o terceiro lugar no mundo (USDA, 2005). De acordo com dados da FAO, no período de 1993 a 2003, a produção de frango cresceu 146%, enquanto a de suínos, apenas 22% e a de bovinos, 56,5%. Esse maior crescimento na produção de frango em relação a carne de outras espécies deu-se em decorrência da queda dos preços no mercado. Atualmente o Brasil ainda continua sendo o terceiro maior produtor de carne de frango, onde, em 2006, produziu 10.035 mil toneladas, perdendo para China e Estados Unidos onde os mesmos produzem 10.350 e 16.233 mil toneladas respectivamente. Entretanto, nas exportações o Brasil assumiu o primeiro lugar em 2006 com 2.900 mil toneladas de carne de frango exportadas (ANUALPEC, 2006)

Com a tarefa de avaliar o impacto à saúde pública associado ao uso de medicamentos veterinários em animais de produção, foi criado um Grupo de Trabalho (RDC Anvisa Nº 05/2000), que contou com a participação do MAPA e de setores organizados da sociedade civil, incluindo a indústria farmacêutica veterinária, universidades e institutos de pesquisa, órgãos estaduais de vigilância sanitária e laboratórios oficiais de saúde pública.

Um dos eixos das recomendações deste grupo esteve voltado à questão da resistência aos antimicrobianos e a necessidade de implementação de um projeto para o monitoramento e vigilância de bactérias isoladas a partir de alimentos de origem animal. Nesse particular, a Anvisa houve por bem implantar o “Programa Nacional de Monitoramento da Prevalência e da Resistência Bacteriana em Frango – PREBAF”, cujos resultados constam deste relatório.

Posteriormente, os padrões microbiológicos de alimentos no Brasil foram estabelecidos pela Resolução – RDC Anvisa Nº 12/2001. No entanto, esse regulamento técnico não fixou o parâmetro de *Salmonella spp* em carnes *in natura* de aves (ausência em 25 gramas), até que fosse implementado um programa de monitoramento e vigilância capaz de determinar a prevalência de *Salmonella spp*. no alimento em questão. Através da Resolução – RDC Anvisa Nº 13/2001 foi exigida, na rotulagem de carnes de aves embaladas, instruções para o consumidor sobre o adequado preparo, conservação e uso desses produtos, visando prevenir surtos de salmonelose.

Com o propósito de buscar subsídios para a definição de medidas de intervenção, o PREBAF foi ini-

1 CAC/RCP 61-2005, <http://www.codexalimentarius.net/search/advancedsearch.doc>



ciado em agosto de 2004 numa parceria entre Anvisa, VISA e LACEN de 14 UF. O Programa realizou um diagnóstico, com metodologias padronizadas, sobre a prevalência e o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos de *Enterococcus sp* e *Salmonella spp*, bem como a quantificação desta última, isolados a partir de carcaças congeladas de frango comercializadas no Brasil. Essa análise verificou ainda a adequação dos dizeres de rotulagem às exigências da Resolução – RDC Anvisa Nº 13/2001.

Na sua implementação, o PREBAF contou com o envolvimento de uma equipe multidisciplinar composta pela Anvisa, o IOC/FIOCRUZ e o IAL/SP, e as VISA e os LACEN de Alagoas, Amapá, Ceará, Distrito Federal, Espírito Santo, Goiás, Minas Gerias, Mato Grosso do Sul, Paraná, Rio de Janeiro, Rio Grande do Norte, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e São Paulo (capital e Ribeirão Preto).

Com vistas a facilitar a exposição do tema, bem como sua compreensão, este relatório foi subdividido em: características gerais e epidemiologia de *Salmonella* e *Enterococcus*; descrição de todas as etapas do PREBAF, que vão desde os objetivos do programa aos seus resultados; discussão, conclusões e recomendações.



PARTE I

CARACTERÍSTICAS GERAIS E EPIDEMIOLOGIA DE *SALMONELLA* E *ENTEROCOCCUS*

I. GÊNERO *SALMONELLA*

1. CARACTERÍSTICAS GERAIS, NOMENCLATURA E CLASSIFICAÇÃO:

O gênero *Salmonella* foi inicialmente caracterizado em 1885, tendo sua denominação em homenagem ao patologista Daniel Salmon. Pertencente à família Enterobacteriaceae, é um bastonete Gram negativo, geralmente móvel, forma ácido e gás a partir da glicose, excetuando-se os sorovares *S. Pullorum* e *S. Gallinarum*, que são imóveis e no máximo 5% produzem gás. O gênero apresenta ainda como características metabólicas bem definidas a capacidade de descarboxilação da lisina, produção de gás sulfídrico e utilização do citrato como fonte única de carbono.

Sua nomenclatura, baseada na homologia do DNA, efetivou a inclusão do gênero *Arizona* e atualmente, com base em características fenotípicas, o gênero é dividido em três espécies: *S. enterica*, *S. bongori* e *S. subterranea*. Particularmente *S. enterica* subdivide-se em seis subespécies: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica*.

Em cada subespécie é reconhecido diferente número de sorovares com base na caracterização de seus antígenos capsular (Vi), somáticos (O) e flagelares (H), perfazendo atualmente mais de 2.500 sorovares (Quadro 1). A subespécie *S. enterica* apresenta maior número de sorovares, sendo responsável por 99% dos isolamentos do gênero. Usualmente tais sorovares são isolados a partir de animais de sangue quente.

Espécies	<i>S.enterica</i>						<i>S.bongori</i>	<i>S.subterranea</i>
Subespécies	<i>enterica</i>	<i>salamae</i>	<i>arizonae</i>	<i>diarizonae</i>	<i>houtenae</i>	<i>indica</i>		
Sorovares	1490	500	94	329	72	12	22	?

Quadro 1. Distribuição do número de sorovares de *Salmonella* de acordo com a espécie

Em 2002 foram incluídos 18 novos sorovares reconhecidos pelo WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*, sendo doze pertencentes a *S. enterica* subespécie *enterica*; duas, à subespécie *salamae*; duas, à subespécie *diarizonae*; uma, à *houtenae*; e uma, a *S. bongori*. Mais recentemente uma nova espécie, *S. subterranea*, teve seu primo isolamento a partir de sedimento subterrâneo e foi validada em 2005.

As características bioquímicas que permitem diferenciar as distintas subespécies dentro da espécie *enterica* e as espécies *S. bongori* e *S. subterranea* são apresentadas no Quadro 2. Entretanto os sorovares *S. Typhi* e *S. Paratyphi A*, pertencentes a subespécie *enterica*, apresentam algumas características diferenciais não apontadas.



Quadro 2: Características bioquímicas utilizadas na diferenciação de subespécies de *S. bongori* e *S. subterranea*.

Espécies	<i>S. enterica</i>						<i>S. bongori</i>	<i>S. subterranea</i>
	<i>enterica</i>	<i>salmatae</i>	<i>arizonae</i>	<i>diarizonae</i>	<i>houstenae</i>	<i>Indica</i>		
Subespécies								
Características								
Dulcitol	+	+	-	-	-	b	+	+
ONPG(2h)	-	-	+	+	-	b	+	+
Malonato	-	+	+	+	-	-	-	-
Gelatinase	-	+	+	+	+	-	+	-
Sorbitol	+	+	+	+	+	-	+	-
Crescimento KCN	-	-	-	-	+	-	+	+
L(+)-Tartarato ^(a)	+	-	-	-	-	-	-	+ ^c
Galacturonato	-	+	-	+	+	+	+	ND
γ-glutamyl transferase	+ ^(b)	-	+	+	+	+	+	ND
β-glucuronidase	D	D	-	+	-	b	-	ND
Mucato	+	+	+	- (70%)	-	+	+	ND
Salicina	-	-	-	-	+	-	-	ND
Lactose	-	-	- (75%)	+	-	b	-	-
Lise-fago O ₁	+	+	-	+	-	+	D	ND
Habitat normal	Animais de sangue quente		Animais de sangue frio e meio ambiente					?

a: d-tartarato

b: *S. Typhimurium*, *S. Dublin* (-)

c: cresce sem produção de ácido

D: diferentes reações (sorovares)

ND: Não determinado

+: ≥90% positivas

-: ≥90% negativas

2. HABITAT NATURAL

As salmonelas podem ser divididas em três categorias, com base na especificidade do hospedeiro e padrão clínico por elas determinado: salmonelas altamente adaptadas ao homem, incluindo os agentes etiológicos da febre entérica (febre tifóide e paratifóide), que são *S. Typhi* e *S. Paratyphi A, B e C*; salmonelas altamente adaptadas aos animais, representadas por *S. Dublin* (bovinos), *S. Choleraesuis* e *S. Typhisuis* (suínos), *S. Pullorum* e *S. Gallinarum* (aves), responsáveis pelo paratifo dos animais. Contudo, em particular os sorovares *S. Dublin* e *S. Choleraesuis*, podem provocar no homem em determinadas situações (jovens, idosos, pacientes com doenças crônicas e imunocomprometidos), um quadro septicêmico, isto é, mais grave do que o causado por *S. Typhi* (Lax *et al.*, 1995); e salmonelas zoonóticas, que incluem a maioria dos sorovares, e atingem indiferentemente o homem e animais, sendo responsáveis por gastroenterites (comumente enterocolites) e doenças transmitidas por alimentos (DTA). Sua distribuição é mundial, sendo os alimentos os principais veículos de sua transmissão. São responsáveis por significantes índices de morbidade e mortalidade, tanto nos países emergentes como desenvolvidos, determinando pequenos e grandes surtos envolvendo, principalmente, o consumo de alimentos de origem animal como ovos, aves, carnes e produtos lácteos.



Na epidemiologia da doença humana há predomínio de somente poucos sorovares, alguns se mantendo disseminados em estágio contínuo (*S. Typhimurium*), ou emergentes como *S. Hadar*, *S. Heidelberg*, *S. Infantis* e *S. Enteritidis* (Khakhria *et al.*, 1997; Caffer *et al.*, 1997; Mansuy & Schlegel, 1997; Velge *et al.*, 2005).

Duas maiores mudanças na epidemiologia das salmoneloses não tifóides na Europa e Estados Unidos, ocorreram na segunda metade do século XX: a emergência de infecções humanas de origem alimentar, determinadas por *S. Enteritidis* e a multirresistência a antimicrobianos em cepas de *S. Typhimurium* (Rabsch *et al.*, 2001; O'Brien, 2002).

No Brasil, também se constatou a prevalência no número de *S. Enteritidis* isolados durante 1991-1995 em fontes humanas e não-humanas, particularmente em ovos, aves (matrizes), amostras ambientais e matérias-primas de ração comercial (Reis, 1994; Tavechio *et al.*, 1996, Hofer *et al.* 1997 e 1998, Seki, 2000).

No computo geral, relatórios apresentados por Rodrigues (2000 a 2006) à Coordenação Geral de Laboratórios de Saúde Pública (CGLAB/DEVEP/SVS/MS), bem como a Organização Panamericana de Saúde de 1999 a 2003, apontaram o aumento na incidência de diferentes sorovares de *Salmonella* spp. em nosso meio.

3. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E PATOGENIA

A dose infectante varia de 10^5 a 10^8 células, porém em pacientes imunocomprometidos têm sido observadas doses $\leq 10^3$ células para alguns sorovares, envolvidos em surtos de DTA. A manifestação clínica inclui quadros entéricos agudos ou crônicos, além de localização extraintestinal, como infecções septicêmicas, osteomielite, artrite, hepatite, etc. Alguns sorovares são reconhecidos por seu potencial patogênico como *S. Typhimurium*, o qual além do quadro gastrintérico pode determinar infecção septicêmica nos animais jovens e homem e *S. Infantis* e *S. Agona* altamente envolvidos em infecções graves em crianças (Fonseca *et al.*, 2006).

Os microrganismos penetram por via oral invadindo a mucosa intestinal, disseminando-se para a submucosa, resultando em enterocolite aguda. Normalmente o quadro diarréico é moderado, sem a presença de sangue entretanto, em alguns quadros clínicos, pode ocorrer perda de pequeno volume de fezes associado a tenesmo e sangue. Seu transporte, através do sistema retículo-endotelial e a capacidade de multiplicação no interior dos macrófagos, possibilitam sua manutenção e disseminação no organismo. Indivíduos subnutridos ou com deficiências do sistema imune podem apresentar infecções de extrema gravidade, como por exemplo, a incidência de bacteremia em pacientes aidéticos, dos quais 20 a 60% relatam infecção gastrintestinal prévia (Lax *et al.* 1995).

Sua virulência é multifatorial, incluindo mobilidade, habilidade de penetrar e replicar nas células epiteliais, resistência à ação do complemento, produção de entero, cito e endotoxina, sendo desconhecido o exato papel de cada um, para a manifestação da doença. Em alguns sorovares a virulência é mediada por um plasmídeo, em uma região do operon de 8 Kb que contém os genes *spvR ABCD*, cuja origem ainda encontra-se desconhecida (Libby *et al.* 2000, Oliveira *et al.* 2003). A relação entre a presença deste plasmídeo de virulência e sorovar já se encontra bem estabelecida em *S. Dublin*, *S. Gallinarum* e *S. Choleraesuis* (Rotger & Casadesús, 1999).

4. SALMONELLA EM ALIMENTOS:

A salmonelose é uma das zoonoses mais complexas em sua epidemiologia e controle, cujos padrões diferem de uma região para outra. Isto se deve a diferenças nos hábitos alimentares, práticas de elaboração de alimentos, criação de animais e padrões de higiene e saneamento. Seu controle é um trabalho árduo, tendo em vista a emergência de novos sorovares e a reemergência de outros em determinadas áreas, tanto nos países emergentes quanto naqueles industrializados (OMS, 1988).



Considerando que sua principal via de transmissão está na cadeia alimentar, sua presença em animais, criados com objetivo comercial, aponta este microrganismo como o mais incidente e relevante agente etiológico de enteroinfecções. Isto resulta em milhões de dólares em perdas para a indústria, particularmente de bovinos, suínos e aves, tanto para o mercado interno quanto para exportação, onde em alguns países, a rigidez na inspeção representa uma necessidade constante de qualidade (Jay, 2000; Humphrey, 2000).

Particularmente nas aves, a transmissão de *Salmonella* pode ser do tipo vertical ou horizontal. Por séculos o consumo de ovos sem cocção era uma prática comum do homem, porém na atualidade o reconhecimento, a partir de diferentes surtos, determinados pelo sorovar *S. Enteritidis* e mais recentemente outros sorovares (*S. Heidelberg*, *S. Agona* e *S. Virchow*) levaram ao reconhecimento de sua capacidade de transmissão transovariana, levando a disseminação para o homem através de alimentos onde são utilizados sem a devida cocção, como tortas, maioneses, omeletes, etc (White *et al.* 2006).

A transmissão horizontal envolve todos os sorovares, os quais apresentam características ubíquas, pode se dar através do meio ambiente, onde roedores assumem o papel de portador assintomático, por longos períodos (superior a 10 meses) disseminando tais microrganismos entre diferentes áreas. Outra via, a qual ainda é objeto de especulação está representada pelas rações. Embora, na literatura nacional, durante o século XX entre as décadas de 80 e 90, seja apontada ausência dos sorovares adaptados às aves em rações ou suas matérias primas de origem animal, algumas medidas têm sido adotadas pelos criadores, no sentido de minimizar possíveis contaminações, tendo em vista a impossibilidade de sua eliminação total (In: Back *et al.* 2006).

Os produtos agrícolas não processados como hortaliças, frutas e os alimentos de origem animal, como carnes cruas, leite e ovos, são veículos freqüentes de salmonelas. A contaminação de origem fecal é geralmente a fonte para os produtos agrícolas, pela exposição à água contaminada; para o leite e ovos, através da exposição direta e para a carne, usualmente durante as operações de abate (OMS, 1988).

A carne de aves tem se convertido em um alimento amplamente consumido mundialmente e em países emergentes, entre eles o Brasil, representando uma fonte relativamente barata de proteína de boa qualidade, cuja produção de aves em grande escala resulta mais fácil que a de outros animais empregados como alimento.

Por outro lado, quase todos os plantéis de aves podem estar contaminados devido às características zoonóticas do microrganismo com a necessidade de extensa atividade de controle por parte dos responsáveis pela sua produção. As infecções determinadas por estes microrganismos são comumente associadas a um sistema de criação intensiva, atingindo aves jovens (até duas semanas de idade), sendo os adultos portadores assintomáticos, por longo período (Hofer *et al.*, 1997). Embora todas as salmonelas possam ser reconhecidas como um patógeno potencial, algumas responsáveis por infecção no homem, estão presentes no intestino de aves sadias, sem detrimento para o hospede sendo, porém, capazes de contaminar o meio ambiente e outras aves, através das fezes (Poppe, 2000). O número de bactérias pode ser baixo em princípio, porém a contaminação dos produtos pode ocorrer além da cadeia produtiva, durante o transporte, processamento, embalagem, estocagem, distribuição e preparo para o consumo, aumentando substancialmente o risco de infecção (OMS, 1988 e 2002; Logue *et al.*, 2003).

A contaminação cruzada é o fator principal no caso de alimentos elaborados como cereais, chocolate, doces, produtos a base de soja, produtos a base de ovos pasteurizados, leite em pó, ingredientes de rações para animais (farinha de peixe, de penas e de ossos) e condimentos. A contaminação durante a elaboração ou preparo pode resultar do contato direto com alimentos antes de sua cocção ou proveniente do meio ambiente, como no caso de superfícies contaminadas em cozinhas ou indústrias (OMS, 1988; DANMAP, 2003).

Comparando com outros bastonetes Gram negativos, as salmonelas são relativamente resistentes a vários fatores ambientais. A adaptabilidade fisiológica de *Salmonella* é demonstrada por sua habili-



dade de crescer na presença ou ausência de ar, bem como atmosfera modificada como por exemplo, em nitrogênio embora apresente crescimento reduzido, do mesmo modo que em presença de 80% CO₂. Entretanto multiplica-se facilmente 8-11°C em presença de 20-50% CO₂. Prolifera em pH entre 7.0 e 7.5 (extremos 3.8 – 9.5), temperatura de 35 – 43°C (extremos 5 a 46°C) e uma atividade hídrica (0,94 a 0,99), ocorrendo variações entre sorovares e/ ou cepas ou ainda de acordo com a interrelação entre diferentes fatores. É capaz de sobreviver por longos períodos em refrigeração e particularmente em alimentos de origem animal sobrevive ao congelamento.

Nos produtos secos como o chocolate, o cacau em pó, as especiarias ou o leite em pó e em produtos congelados como os sorvetes, o normal é a sobrevivência por períodos de tempo prolongados. A bactéria é sensível ao calor, não sobrevivendo à temperatura superior a 70°C, no entanto a termorresistência pode incrementar-se com menor coeficiente de atividade de água, como por ex. inativação que ocorre rapidamente em temperatura de pasteurização em alimentos com atividade de água $\geq 0,95$ (OMS, 1988, Franco & Landgraf, 1996, Forsythe, 2002).

A associação entre tolerância ao sal e ácido resistência são interdependentes. Certos processos como salmoura ($\geq 9,0\%$) e defumação têm efeito limitado na sobrevivência das salmonelas, podendo sobreviver por vários meses na salmoura com cerca de 20% de sal, em produtos de elevado teor proteico ou de gordura. Como exemplos podem ser citados a carne seca defumada e o pescado, onde apresentam capacidade de sobrevivência de várias semanas a meses. A relativa resistência que estes microrganismos apresentam à dessecação, congelamento, salmoura e defumação, explica porque sobrevivem em muitas classes de alimentos. O efeito bactericida das condições ácidas varia de acordo com a natureza do ácido utilizado no processo, onde os ácidos acético e propiônico são mais inibitórios que os ácidos lático e cítrico. Deve ser salientado que, em alimentos com elevado teor lipídico, como ovos e chocolate, as salmonelas ficam dentro dos glóbulos de gordura, protegidas, não sendo afetadas pelas enzimas digestivas ou pela acidez gástrica, fato este que reduz a dose infectante (Forsythe, 2002).

II. GÊNERO *ENTEROCOCCUS*

1. CARACTERÍSTICAS GERAIS, NOMENCLATURA E CLASSIFICAÇÃO

Enterococos são bactérias amplamente distribuídas na natureza sendo encontrados no solo, alimentos, água, animais, pássaros e insetos, fazendo parte, também, da microbiota dos tratos gastrintestinal e geniturinário de humanos e de outros animais. Podem ser encontrados nas fezes de adultos humanos, sendo *E. faecalis* e *E. faecium*, as principais espécies isoladas (Teixeira & Facklam, 2003).

Enterococos tem sido reconhecido como patógeno humano, em potencial, desde a virada do século XX. A partir de 1912, esta bactéria tem sido associada com uma série de doenças como endocardites, infecções do trato urinário, dentária, abdominal, de feridas (principalmente durante a Primeira Guerra Mundial), sepsis puerperale osteomielite. Infecção do trato urinário é a mais comum patologia enterocócica humana, normalmente ocorrendo em pacientes hospitalizados, seguida pela infecção intra-abdominal e pélvica, neonatal, bacteremia e endocardite. (Moellering Jr *et al.*, 1970; Murray, 1990; Miranda, Singh, Murray, 1991; Hall *et al.*, 1992).

A importância do enterococo como agente etiológico de infecções hospitalares é bem documentada, sendo, portanto, difícil estabelecer a fonte de infecção, já que este organismo pode ter como origem a auto infecção (Dunne & Wang, 1997; McDonald *et al.*, 1997).

Como causa de infecção hospitalar, os enterococos foram classificados como o terceiro agente mais comum pelo "*National Nosocomial Infection Surveillance System*" (NNISS) em 1984 nos EUA, passando para segundo lugar no período de 1986 a 1989. Os enterococos são responsáveis por cerca de 10% de todas as infecções hospitalares, das quais 17% correspondem ao trato urinário e 7%, às bacteremias (Schaberg, Culver, Gaynes, 1991; Boyle *et al.*, 1993).



Os fatores de risco associados à infecção hospitalar por enterococos podem ser: o uso de antibióticos aos quais a bactéria é resistente (cefalosporinas e aminoglicosídeos); o uso de múltiplas vias de acesso vascular, cateter urinário e outros materiais invasivos; a gravidade da doença e indivíduos debilitados; o uso de antibióticos que não possuem ação efetiva sobre enterococos; os pacientes transplantados; e a combinação de um ou mais fatores (George & Uttley, 1989; Boyce, 1997; Eliopoulos, 1997).

A resistência à vancomicina, em amostras de *Enterococcus* isoladas na clínica, foi primeiramente descrita em 1988 e, desde então, têm sido reportados em todo o mundo como responsáveis por surtos de infecção hospitalar (Frieden *et al.*, 1993; Kjerulf, Pallesen, Westh, 1996; Melhus & Tjernenberg, 1996; Uttley *et al.*, 1988).

A vancomicina tem sido escolhida para o tratamento de infecções desde 1950, e seu uso foi moderado até a década de 1980, quando, a partir de então, passou a ser extensivamente utilizada (Woodford, 1998). Múltiplos genes estão envolvidos na geração da resistência à vancomicina e seis fenótipos estão descritos: VanA, VanB, VanC, VanD, VanE e VanG, sendo estes associados com diferentes ligases e sítios alvos da vancomicina na parede celular dos enterococos (Leclercq *et al.*, 1988; Lai & Kirsch, 1996; Perichon, Reynolds, Couvarlin, 1997; Fines *et al.*, 1999).

A múltipla resistência dos enterococos aos antimicrobianos poderá refletir em dificuldades terapêuticas, devido a sua habilidade de adquirir novas características de resistência a altas concentrações de gentamicina, penicilina e vancomicina (Murray, 1991; Frieden *et al.*, 1993; Leclercq & Couvarlin, 1997; Murray, 1998).

Taxinomicamente o nome “entérocoque” foi primeiramente utilizado em uma publicação francesa em 1899, sendo proposto para enfatizar a origem intestinal destas bactérias Gram-positivas (Thiercelin, *apud* Murray, 1990). Em 1906, o nome *Streptococcus faecalis* foi dado a uma bactéria isolada de um caso de endocardite, por Andrewes & Horder (*apud* Murray, 1990). No início da década de 1930, Sherman (1937) propôs um esquema de classificação que dividiu os estreptococos em quatro grupos taxonômicos: piogênicos, viridans, lácticos e enterococos, sendo essa classificação correlacionada com o esquema sorológico criado por Lancefield. A motilidade do enterococo foi notada em 1935 e, como se assemelhava a um *Streptococcus faecium*, ficou conhecido como *S. faecium* subespécie *mobilis* (Langston, Gutierrez e Bouma, 1960). Em 1955, foi descrito um enterococo denominado “*malodoratus*” devido ao seu mau-cheiro (Collins *et al.*, 1984). Em 1957 Gradual observou a produção de um pigmento amarelo por alguns desses enterococos móveis, os quais posteriormente foram chamados de *S. faecium* variação *casseliflavus* (Mundt & Graham, 1968).

Desde o início do século XX, várias espécies de enterococos passaram a ser reconhecidas sendo, em meados de 1960, incorporadas para as nomenclaturas oficiais. Em adição as espécies mais conhecidas como *S. faecalis*, *S. bovis*, *S. durans*, *S. zymogenes* e *S. liquefaciens*, outras espécies passaram a ser isoladas não somente de humanos como também de animais, alimentos e plantas.

Estudos de hibridização DNA-DNA e DNA-rRNA, realizados na década de 1980, mostraram diferenças entre enterococos e estreptococos e, em 1984, essas evidências genotípicas demonstraram claramente que essas bactérias deveriam ser classificadas separadamente, sugerindo a criação do gênero *Enterococcus* (Schleifer & Kilpper-Bälz, 1984). Os trabalhos publicados que deram suporte para a criação deste novo gênero são citados no Manual de Bergey em 1984, aceitando a incorporação do *Enterococcus* na nomenclatura oficial (Schleifer, 1984).

Atualmente o gênero é formado por 21 espécies: *E. avium*, *E. gilvus*, *E. malodoratus*, *E. pallens*, *E. pseudoavium*, *E. raffinosus*, *E. saccharolyticus*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. casseliflavus*, *E. gallinarum*, *E. mundtii*, *E. dispar*, *E. durans*, *E. hirae*, *E. porcinus*, *E. ratti*, *E. asini*, *E. cecorum*, *E. sulfureus* e *E. columbae*, sendo que a maioria dessas são de ocorrência rara na clínica humana (Teixeira & Facklam, 2003).

O gênero *Enterococcus* consiste de cocos Gram-positivos, anaeróbios facultativos e que podem se apresentar na forma de cadeias curtas, aos pares ou como células únicas. Os enterococos não possuem enzimas citocrômicas e, portanto, são catalase-negativo, salvo algumas cepas que podem



produzir uma pseudocatalase (Scheifler, 1984; Facklam & Carey, 1985). Em laboratórios clínicos, o gênero tem sido identificado presuntivamente, por muitos anos, pela sua morfologia através da coloração de Gram, pela capacidade de crescimento na presença da bile, hidrólise da esculina e crescimento em meio líquido contendo 6,5% de NaCl. Atualmente, esta identificação presuntiva precisa ser complementada com outros testes bioquímicos, pois cepas do gênero *Lactococcus*, *Leuconostoc* e *Pediococcus*, que apresentam reação positiva para os testes presuntivos acima citados, já foram isolados de infecções humanas (Facklam, 1972; Facklam, 1980; Facklam, Sham, Teixeira, 1999). O Quadro 3 mostra os principais testes utilizados na rotina laboratorial para a identificação presuntiva do gênero *Enterococcus* (Facklam, Sham, Teixeira, 1999).

Quadro 3. Características fenotípicas utilizadas para a identificação presuntiva de *Enterococcus* e gêneros relacionados

Gêneros	Susceptibilidade à vancomicina	Produção da PYR	Teste da Bile-esculina	Crescimento em		
				6,5% NaCl	10°C	45°C
<i>Enterococcus</i>	R ou S	+	+	+	+	+
<i>Leuconostoc</i>	R	-	v	v	+	v
<i>Pediococcus</i>	R	-	v	+	-	v
<i>Vagococcus</i>	S	+	+	+	+	v
<i>Streptococcus</i>	S	-	v	v	-	v
<i>Lactococcus</i>	S	v	v	+	+	v

PYR: pyrrolidonyl-arylamidase

+: >90% positivo

-: <10% positivo

v: variável

R: resistente

S: sensível

Fonte: Facklam, Sham, Teixeira, 2003

A identificação das espécies do gênero *Enterococcus*, através dos testes bioquímicos convencionais foi inicialmente proposta por Facklam & Collins (1989), modificada por Facklam & Sham (1995) e recentemente atualizada por Teixeira & Facklam (2003). As espécies do gênero *Enterococcus* são divididas em cinco grupos (I-V) com base em três provas bioquímicas: fermentação do manitol, da sorbose, e dehidrolação da arginina. Outras características fenotípicas também são avaliadas para caracterizar as diferentes espécies de enterococos e gêneros relacionados, como mostra a Quadro 4.



Quadro 4. Características fenotípicas utilizadas para a identificação das espécies de *Enterococcus* e gêneros relacionados

Espécies	MAN	SOR	ARG	ARA	SBL	RAF	TEL	MOT	PIG	SUC	PYU	MGP
Grupo I												
<i>E. avium</i>	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	v
<i>E. gilvus</i>	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-
<i>E. malodoratus</i>	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+	v
<i>E. pallens</i>	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+
<i>E. raffinosus</i>	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	v
<i>E. pseudoavium</i>	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+
<i>E. saccharolyticus</i>	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+
Grupo II												
<i>E. faecalis</i>	+*	-	+*	-	+	-	+	-	-	+*	+	- ^b
<i>Lactococcus ssp</i>	+	-	+	-	-	-	-	-	-	v	-	-
<i>E. faecium</i>	+*	-	+	+	v	v	-	-	-	+*	-	-
<i>E. casseliflavus</i>	+	-	+*	+	v	+	-*	+*	+*	+	v	+
<i>E. mundtii</i>	+	-	+	+	v	+	-	-	+	+	-	-
<i>E. gallinarum</i>	+*	-	+*	+	-	+	-	+*	-	+	-	+
Grupo III												
<i>E. dispar</i>	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+
<i>E. durans</i>	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. hirae</i>	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-
<i>E. porcinus</i>	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. ratti</i>	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Grupo IV												
<i>E. asini</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
<i>E. cecorum</i>	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-
<i>E. sulfureus</i>	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+
Grupo V												
<i>E. columbae</i>	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-
<i>Vagococcus sp.</i>	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+

MAN: manitol; SOR: sorbose; ARG: arginina; ARA: arabinose; SBL: sorbitol; RAF: rafinose; TEL: telurito a 0:04%; MOT: motilidade; PIG: pigmento; SUC: sucrose; PYU: piruvato; MGP: metil- α -glicopiranosida; +: >90% positivo; -: <10% positivo; v: variável; *: exceções ocasionais (<3% das cepas apresentam reações discordantes); R: resistente; S: sensível.

Fonte: Teixeira & Facklam, 2003.

2. HABITAT NATURAL

Enterococos são habitantes da microbiota intestinal, podendo ser encontrados em quase todos os animais, desde insetos domésticos a humanos. Esta bactéria pode ser isolada da vegetação e de superfícies de águas, que provavelmente foram contaminadas por excrementos de animais ou por água de esgoto não tratado (Moellering Jr, 1992; Jett, Huycke, Gilmore, 1994). Em humanos, a concentração de enterococos nas fezes é de aproximadamente 10^8 UFC/g (Rice *et al.*, 1995). Embora a cavidade oral e o trato vaginal possam estar colonizados por enterococos, esta bactéria é isolada destes sítios com uma menor frequência (Beragie *et al.*, 1975; Kurrie *et al.*, 1981; Smyth *et al.*, 1987; Rice *et al.*, 1995). *E. faecalis* é a principal espécie isolada do trato gastrointestinal humano, sendo que as espécies *E. faecium*, *E. gallinarum* e *E. casseliflavus*, também podem ser encontradas, porém em proporções variadas (Teixeira & Facklam, 2003).



3. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E PATOGENIA

Enterococcus tem sido reconhecido como patógeno humano em potencial desde a virada do século XX. Em 1912 essa bactéria começou a ser associada a uma série de infecções e, a partir de 1920, passaram a ser publicadas várias revisões (Sherman, 1937). A publicação original da presença desse microrganismo em pacientes com enterites, apendicites e meningites foi realizada por Thiercelin em 1899 (*apud* Murray, B.E., 1990).

O papel dos enterococos nas infecções urinárias foi primeiramente reportado em 1906, sendo confirmado, posteriormente, por outros pesquisadores (Sherman, 1937; Evans & Chin, 1947). Durante a Primeira Guerra Mundial, alguns autores relataram a associação dos enterococos com infecções de feridas, embora não tenha sido estabelecido se a bactéria estava colonizando ou causando a infecção. Outras infecções por enterococos foram reportadas no início de 1930 como quadros de osteomielite e infecções dentárias, entre outras (Evans & Chin, 1947). Recentemente, os enterococos têm sido reconhecidos como causa de infecção hospitalar, em pacientes recebendo antibioticoterapia (Murray, 1990).

A presença dos enterococos no trato urinário, por muitas vezes, pode ocorrer como uma colonização assintomática, sendo a urina a principal fonte de isolamento em humanos (Moellering Jr, 1992; Murray & Mederski-Samaroj, 1983). Na maioria das vezes essas infecções são hospitalares e podem levar a casos de prostatite e abscessos perinéfricos (Gross *et al.*, 1976; Morrison & Wenzel, 1986; Eldestein & McCabe, 1988). Essas infecções podem estar associadas com instrumentação ou anormalidades estruturais do trato urinário, com infecções urinárias recorrentes e com antibioticoterapia prévia (Warren, Tenney, Hoopes, 1982; Musher, 1990; Moellering Jr, 1992).

Infecções intra-abdominais e pélvicas por enterococos são as mais prevalentes após as infecções urinárias. Quando são isolados a partir desses locais, freqüentemente fazem parte de uma infecção polimicrobiana e nem sempre é possível estabelecer o seu papel como causa primária da infecção (Musher, 1990; Moellering Jr, 1992). Entretanto, já é de conhecimento que este microrganismo pode contribuir para a formação de abscessos abdominais e pélvicos levando a um quadro de sepsis (Hoffman & Mollering Jr, 1987; Musher, 1990; Murray, 1990; Mollering Jr, 1992).

A bacteremia é o terceiro tipo mais comum de infecção (Moellering Jr, 1992), sendo nos pacientes com endocardite, decorrente de infecções do trato urinário, intravenosas e intra-arteriais, e infecções intra-abdominais (Evans & Chin, 1947; Maki, 1981; Shlaes, Levy, Wolinsky, 1981; Malone *et al.*, 1986; Gulberg, Homann, Phair, 1989). A alta taxa de mortalidade associada com bacteremia por enterococos pode estar associada ao comprometimento clínico do hospedeiro (Maki, 1981; Whiteside, Moore, Ratzan, 1983; Hoffman & Moellering Jr, 1987; Maki & Agger, 1988; Gullberg, Homann, Phair, 1989).

Enterococos causam cerca de 10 a 20% das endocardites bacterianas, principalmente em idosos. Diferente da bacteremia, a endocardite é freqüentemente adquirida na comunidade (Kaye, 1982; Musher, 1990; Moellering Jr, 1992), e suas principais portas de entrada são o trato geniturinário e a via biliar (Mandell *et al.*, 1970; Wilson *et al.*, 1984). Um outro grupo de risco importante que pode adquirir endocardite é o usuário de drogas (Reiner, Gopalakrishna e Lerner, 1976).

Outras infecções, como meningite, são raras, sendo principalmente encontradas em recém-nascidos em estado grave. Em adultos, infecção do sistema nervoso central ocorre em pacientes com história de cirurgia e ou quimioterapia, assim como osteomielite e infecções pulmonares (Murray, 1990; Moellering Jr, 1992; Scharberg, Culver, Gayness, 1991; Emori & Gayness, 1993, Teixeira & Facklam, 2003).



4. ENTEROCOCOS NOS ALIMENTOS

Os enterococos estão amplamente distribuídos no ambiente e principalmente no trato gastrointestinal dos homens e animais. *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) é a espécie predominante no homem, embora alguns indivíduos em alguns países apresentem a espécie predominante *Enterococcus faecium* (*E. faecium*) (Devriese & Pot, 1995). Entretanto, Mundt (1986) demonstrou que é comum a presença de *E. faecalis* em diversos alimentos e que nem sempre a presença do mesmo está associada com a contaminação fecal do alimento. Em 1992, a União Européia estabeleceu um nível máximo para a presença de Coliformes e *Escherichia coli*, ambos considerados indicadores de higiene, quando não havia limites estabelecidos para a presença dos enterococos. Verificou-se que a detecção desta bactéria, no processamento dos alimentos de uma forma em geral, apresentou pouca importância como parâmetro de indicação de higiene (Birolo *et al.*, 2001). Isto se deu devido os *E. faecalis*, *E. faecium* e *Enterococcus duran* estarem presentes na maioria dos animais de produção tais como, suínos, ovinos, bovinos e também encontram-se distribuídos no solo, água, plantas, vegetais e insetos (Mundt, 1986). Ainda segundo o mesmo autor, a resistência dos enterococos às temperaturas de pasteurização, e sua adaptabilidade à diferentes substratos e condições de crescimento (baixa e altas temperaturas, pHs extremos e salinidade) implica que os mesmos podem ser encontrados em qualquer alimento de origem animal (carne ou leite) ou não, alimentos processados crus ou que tenham sido submetidos à tratamento térmico. Isto significa que estas bactérias podem ser encontradas em qualquer ponto do fluxograma de produção de diversos tipos de alimentos.

Segundo Vancanneyt *et al.* (2002) e Franz *et al.* (2003) os enterococos têm apresentado significativa importância na tecnologia do processamento dos alimentos, devido à capacidade que os mesmos têm de promover a fermentação devido à produção do ácido láctico (por exemplo: em salames, salsichas e queijos) e produzir bacteriocinas (enterocinas). Recentemente, há a publicação de pesquisas com a utilização de enterococos como culturas iniciadoras “starters” ou “co-starters” sendo neste último adjuvantes de processos fermentativos. A maior parte deste tipo de pesquisa foi focada na análise bioquímica e tecnológica de cepas de enterococos para serem utilizados no processamento tecnológico de queijos e em produtos cárneos fermentados. Entretanto, a seleção de cepas de enterococos para serem utilizados no processamento de alimentos tem sido uma difícil tarefa devido ao potencial risco que esses microrganismos oferecem à saúde humana.

O risco potencial à saúde humana está no fato de algumas cepas de enterococos apresentarem resistência à vários antibióticos, podendo ser resistência natural (intrínseca) e/ ou adquirida (transferência). Exemplos de resistência intrínseca encontram-se a resistência à vancomicina (Tipo VanC) em *Enterococcus gallinarum*, e resistência para estreptomicina em *E. faecalis*, bem como a resistência para isoxazolympenicilinas, cefalosporinas, monobactâmicos, aminoglicosídeos (baixas concentrações), lincosamidas (maioria) e polimixinas. A resistência para ampicilina (especialmente em *E. faecium*), tetraciclina, macrolídeos e aminoglicosídeos (altas concentrações), cloranfenicol, trimetropin/ sulfamethoxazole, quinolonas e estreptomicina (em *E. faecium* e outras espécies relatadas) são adquiridas, bem como a resistência para glicopeptídeos (vancomicina, sendo que esta possui os genes de resistências tipos vanA, vanB, vanD e vanE). Sendo assim, a ampicilina, a vancomicina e a gentamicina são os antibióticos de eleição para tratamento de infecções clínicas, com várias cepas de enterococos resistentes a essas bases.

Os enterococos resistentes à antibióticos encontram-se amplamente distribuídos nos alimentos. Eles têm sido detectados em carnes e produtos derivados, leites e produtos lácteos derivados, dentre outros tipos de alimentos destinados ao consumo humano (Foulquié Moreno *et al.*, 2006). Franz *et al.*, (2001) encontraram traços de resistência adquirida em alimentos oriundos da Europa, entretanto estes mesmos autores verificaram que em geral as cepas não apresentaram resistência à antibióticos relevantes em clínica. Giraffa (2002) enfatiza ainda o possível papel desempenhado pelos enterococos resistentes aos antibióticos, principalmente os resistentes à vancomicina, como sendo os alimentos um reservatório natural na disseminação de traços de resistência à antibióticos no ambiente. Este mesmo autor verificou ainda a existência de ligação entre antibióticos utilizados em animais de produção e a presença em humanos de enterococos resistentes a antibióticos, sendo esta transmissão ocorrida via cadeia alimentar. Logo, a presença destes microrganismos nos alimentos podem carrear ao homem potenciais fatores de virulência que podem comprometer a saúde humana.



III. RESISTÊNCIA MICROBIANA

1. CARACTERÍSTICAS GERAIS E CONCEITOS

A resistência microbiana pode ser classificada como natural ou intrínseca, e adquirida. A resistência natural decorre de uma propriedade comum aos microrganismos da espécie, tal qual ocorre com os bacilos Gram-negativos (*Escherichia coli*, *Proteus*) resistentes à penicilina G. Essas bactérias sintetizam enzimas que clivam esse antibiótico, denominadas beta-lactamases, e possuem, além disso, envoltórios que dificultam o acesso da penicilina ao seu alvo molecular. A resistência adquirida é resultante da aquisição de mecanismos normalmente ausentes nas bactérias da espécie em questão. A maioria dos isolados de *Staphylococcus aureus* não apresentava resistência à penicilina G a princípio. Porém, já nos primeiros anos de uso desse antimicrobiano, foram detectadas linhagens resistentes. Outro exemplo de resistência adquirida foi observado nos enterococos resistentes à vancomicina, objeto de grande preocupação na área da saúde (Monroe & Polk, 2000; Palermo-Neto & Titze-de-Almeida, 2002; Alekshun & Levy, 2007).

Antimicrobianos são medicamentos que atuam causando a morte ou a inibição do crescimento de microrganismos. Podem ser administrados em animais para tratar ou prevenir a ocorrência de doenças infecciosas e, também, como aditivos, neste caso visando melhorar o desempenho zootécnico de animais de produção. O uso dessas substâncias é objeto de grande preocupação na área da saúde, considerando-se os riscos de resíduos nos produtos derivados dos animais e de desenvolvimento de resistência bacteriana, conforme será abordado a seguir.

A resistência microbiana pode ser conceituada como a habilidade de um microrganismo continuar a multiplicar-se ou persistir na presença de níveis terapêuticos de determinado agente antimicrobiano.

As conseqüências desse fenômeno biológico natural, de valor evolutivo, podem ser interpretadas a partir das visões de diferentes áreas do conhecimento (Titze-de-Almeida & Palermo-Neto, 2005), a saber:

- **Visão microbiológica:** linhagens de bactérias resistentes apresentam uma concentração inibitória mínima (MIC) superior àquela normalmente encontrada em sua espécie. Entenda-se MIC como a menor concentração de um agente antimicrobiano capaz de prevenir o crescimento visível de um microrganismo em meios de cultura para testes de sensibilidade;
- **Visão clínica:** a infecção não será mais controlada, pois a bactéria sobreviverá à antibioticoterapia;
- **Visão farmacológica:** o antimicrobiano, mesmo atingindo níveis adequados nos diversos compartimentos orgânicos, não será efetivo, pois seu mecanismo de ação está prejudicado;
- **Visão molecular:** a bactéria resistente apresenta genes que codificam proteínas envolvidas em mecanismos moleculares que interferem na ação dos antimicrobianos;
- **Visão evolutiva:** a bactéria resistente apresenta material genético que lhe confere vantagem competitiva e que garante sua sobrevivência e proliferação de linhagem na presença do antimicrobiano, condição esta normalmente limitante para os indivíduos sensíveis desta população.



2. MECANISMOS DE RESISTÊNCIA

As bactérias podem apresentar resistência microbiana em função de três mecanismos principais: inativação enzimática da molécula do antimicrobiano, alteração do alvo celular deste agente e redução do nível intracelular do antimicrobiano (Aleksun & Levy, 2007).

A *inativação enzimática* decorre da ação de enzimas bacterianas sobre o princípio ativo do antimicrobiano, como ocorre em *S. aureus* produtores de enzimas beta-lactamases (penicilinase e cefaloporinase) que hidrolisam o anel beta-lactâmico de penicilinas e cefalosporinas. O segundo mecanismo de resistência consiste em alterar (“camuflar”) a estrutura da molécula-alvo do antimicrobiano. Como exemplo, citam-se os enterococos resistentes à vancomicina que substituem o resíduo de alanina por lactato, reduzindo a afinidade da vancomicina pelo seu alvo bacteriano. Finalmente, bactérias podem apresentar resistência quando possuem mecanismos para reduzir a concentração intracelular do antimicrobiano, como as bombas de efluxo. Este mecanismo é utilizado por estafilococos resistentes a antibióticos macrolídios, como a eritromicina (Walsh, 2000; Wright, 2003).

3. CONSEQÜÊNCIAS PARA A SAÚDE HUMANA

A possível transferência da resistência microbiana dos animais para o homem é um tema de grande importância e que tem mobilizado esforços de controle por parte de várias instituições internacionais, incluindo OMS, OIE e *Codex Alimentarius*. Nesse sentido, as duas principais preocupações são a transferência do(s) microrganismo(s) resistente(s) que pode(m), assim, causar uma infecção de difícil controle, e a transferência do(s) gene(s) de resistência do(s) microrganismo(s) de origem animal para o(s) microrganismo(s) de origem humana.

Quanto ao primeiro aspecto, sabe-se que doenças infecciosas de origem alimentar ocorrem quando bactérias patogênicas do hospedeiro ou oportunistas são ingeridas e, posteriormente, superam barreiras orgânicas como, por exemplo, o pH e as enzimas gástricas, o muco, a microbiota normal do TGI e a ação de leucócitos do sistema imune, podendo, assim, causar intoxicação ou infecção. As infecções são a primeira preocupação no que se refere à ingestão de alimentos contaminados com bactérias resistentes, uma vez que a terapia antimicrobiana pode ser ineficaz. Porém, a instalação de um processo infeccioso causado por bactérias resistentes é um processo que depende de várias etapas sucessivas. Assim, uma vez selecionada, uma bactéria resistente deverá contaminar a carcaça durante o processamento, ultrapassar as barreiras que surgem durante a preparação dos alimentos (calor, condimentos, etc.), ser consumida pelo ser humano, vencer as barreiras naturais do TGI humano, multiplicar-se e produzir a infecção e, finalmente, resistir aos tratamentos convencionais, comprometendo o sucesso da terapêutica. Deve-se considerar que infecções alimentares podem de fato ocorrer, trazendo, assim, conseqüências para a saúde do ser humano. A segunda preocupação, conforme citado, seria a transferência de genes de resistência das bactérias de origem animal para aqueles presentes na microbiota humana que, posteriormente, poderiam causar a infecção. A transferência de genes entre bactérias já foi demonstrada experimentalmente, mas a magnitude deste fenômeno, em termos de saúde pública, ainda não foi estabelecida (Appley *et al.*, 2001; Barton, 1998).

Cabe finalmente destacar que o risco de ocorrência de uma infecção a partir da ingestão de alimentos varia de acordo com o microrganismo em questão. Assim, a OMS dividiu os agentes microbianos considerados prioritários para monitoramento de resistência em duas categorias, aqueles zoonóticos, incluindo *Salmonella* spp. e *Campylobacter* spp. e aqueles indicadores de contaminação, que compreendem *Enterococcus* e *Escherichia coli*. Apesar destes quatro gêneros possuírem potencial de causar infecções a partir de alimentos de origem animal, o risco está melhor caracterizado para os zoonóticos. As infecções alimentares causadas por linhagens de *Salmonella* spp. e de *Campylobacter* spp. com resistência a antimicrobianos já estão devidamente caracterizadas na literatura científica (WHO/FAO, 2000; WHO/FAO, 2001).

Apesar dos enterococos apresentarem pouca virulência, é importante ressaltar que essa bactéria está sendo gradativamente reconhecida como causa de sérios problemas à saúde, especialmente em



pacientes hospitalizados. Esse fato tem como explicação, a capacidade desse microrganismo resistir à ação de muitos antimicrobianos. Os enterococos apresentam notável habilidade de adquirir e transferir novos determinantes de resistência (Sapico *et al.*, 1989; Murray, 1990; Moellering Jr, 1992; Arthur & Couvarlin, 1993; Poyart, Celli, Trieu-Cuot, 1995).

A resistência aos antimicrobianos pode ser de dois tipos: intrínseca ou adquirida. A resistência intrínseca é baseada em genes presentes no cromossomo, que tipicamente não são transferíveis e incluem resistência às penicilinas semi-sintéticas, cefalosporinas, baixo nível de resistência aos aminoglicosídeos e baixo nível de resistência à clindamicina, lincomicina, fluorquinolonas e trimetoprim-sulfametoxazol. A resistência adquirida normalmente resulta de uma mutação no DNA ou pela aquisição de um novo gene. Esta aquisição pode ocorrer por transformação, transdução ou conjugação. Os enterococos podem apresentar a resistência ao cloranfenicol, à tetraciclina, macrolídeos, lincosaminas e estreptograminas, o alto nível de resistência aos aminoglicosídeos, aos beta-lactâmicos, aos glicopeptídeos e mais recentemente às quinolonas. (Teixeira & Facklam, 2003; Moellering Jr, 1992; Huyche, Sham, Gilmore, 1998; Cetinkaya *et al.*, 2000).

4. SALMONELLA E RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS

Considerando que a principal via de transmissão de *Salmonella* spp. está na cadeia alimentar, a presença em animais, criados com objetivo comercial, mostra que esse microrganismo é considerado como o mais incidente e relevante agente causal de enfermidade entérica. Contudo, a salmonelose é uma zoonose e seu controle é um trabalho árduo, tendo em vista a emergência de novos sorovares e a reemergência de outros em determinadas áreas, tanto nos países em desenvolvimento quanto naqueles industrializados.

Soma-se neste contexto, o aumento da resistência de *Salmonella* sp. aos antimicrobianos, com o percentual elevando-se de 17% na década de 1970 para 31% ao final dos anos 1980 (WHO, 1997; Neto, 2001), incluindo-se àquelas de última geração, como por exemplo, a resistência às quinolonas (Molbak, 1999, NARMS, 2006).

A incidência de resistência bacteriana a antimicrobianos representa risco à saúde humana e animal. Esse tema de extrema importância tem sido objeto de atenção de instituições como a OMS, OIE e Codex Alimentarius, que vêm discutindo soluções globais para o problema.

A fiscalização de produtos de uso veterinário está prevista na legislação brasileira desde o final da década de 1960 e regulamentada no que diz respeito à utilização, fabricação e comercialização. Entre os produtos veterinários de uso autorizado no Brasil, destaca-se o grupo dos antimicrobianos, fármacos utilizados para prevenção e tratamento de doenças infecciosas, bem como para melhorar o desempenho de animais produtores de alimentos.

A utilização dos antimicrobianos tem como base informações científicas e técnicas, e devem-se respeitar as boas práticas de uso de medicamentos veterinários. Na escolha devem-se considerar a eficácia, aplicabilidade, segurança e custo. De acordo com Bottezini (2003) os antibióticos são também estimulantes do crescimento, atuando no intestino, de modo a selecionar a microbiota intestinal e eliminar microrganismos produtores de toxinas, além de melhorar o aproveitamento dos alimentos. Sua introdução nas rações, visando benefícios para o crescimento, iniciou-se a partir dos trabalhos de Moore *et al.*, (1946) e Stockstad & Jukes (1950). A partir de então, vêm sendo utilizados continuamente na alimentação animal como promotores de crescimento, na melhoria da conversão alimentar e para diminuir o desperdício na produção, além de auxiliar na terapêutica e profilaxia de infecções bacterianas, tendo mostrado ao longo do tempo resultados positivos inclusive no controle de infecções prevalentes em fazendas e estações experimentais de criação (Lopes *et al.*, 2006).

Devido a crescente demanda de produção, na avicultura industrial é imprescindível o uso de técnicas e/ou ações que diminuam a incidência de doenças no plantel avícola. Por muitas décadas, os promotores de crescimento tiveram e ainda têm grande importância na produção de proteína animal devidos às inúmeras vantagens que oferecem, neutralizando ou amenizando com isto os efeitos prejudiciais desses produtos.



Contudo a utilização rotineira e indiscriminada dos antibióticos tem levado ao aparecimento de populações bacterianas resistentes, resultantes do compartilhamento e transferência de genes de resistência entre microrganismos da microbiota normal e também para diferentes patógenos, incluindo os de natureza zoonótica.

Entre os fármacos empregados, é reconhecido que alguns (bacitracina de zinco, clortetraciclina, oxitetraciclina, penicilina, estreptomicina, eritromicina, oleandomicina, virginamicina, flavomicina e lincomicina), favorecem em torno de 10% o ganho de peso, e, de 10% uma melhor conversão alimentar. Usualmente as rações avícolas contêm 2, 4, 10 ou 40 g/t de algum tipo de antibiótico, para estimular o crescimento e melhorar a conversão alimentar.

O uso na terapêutica também requer o conhecimento ou suspeita quanto ao agente infeccioso e o seu perfil de sensibilidade, assim como a avaliação das condições clínicas do animal. Contempla um regime posológico, cuja dosagem e duração possibilitam o controle do processo infeccioso, reduzindo-se riscos de desenvolvimento de resistência bacteriana.

Entretanto, seu uso é feito, muitas vezes, de forma desordenada, tanto no setor agrícola, em que é utilizado através de aspersão direta, quanto na cadeia de produção de alimentos de origem animal, na qual são incorporados às rações. Tal condição leva à seleção de um pool de genes, transferíveis para bactérias comensais presentes no TGI humano ou enteropatógenos, levando a uma pressão seletiva, que favorece a sobrevivência e disseminação através da cadeia alimentar (Hasman, 2005).

A resistência antimicrobiana usualmente é extracromossômica, cuja disseminação pode ocorrer a nível clonal, associada à replicação cromossômica, através de replicons, transferência de plasmídeos ou migração de genes com replicação de transposons, os quais coexistem na natureza e se multiplicam de forma exponencial, tendo em vista que durante a duplicação do DNA podem ser associados elementos de transposição. Resistência a 12 drogas foi observada em um simples plasmídeo de uma enterobactéria (LeDuc, 1995, In: Rodrigues, 2001).

Alguns Gram-negativos podem estar associados a metais pesados, portanto a presença de mercúrio, cádmio ou outros metais pesados no ambiente, pode encorajar a proliferação de microrganismos que contém genes de resistência antimicrobiana. Se por um lado estas características vêm evoluindo significativamente durante as duas últimas décadas, o impacto econômico na comunidade, somente está começando.

Embora a terapia antimicrobiana não seja recomendada na maioria das infecções diarreicas humanas, ela é indicada nas infecções invasivas ou ainda para pacientes imunodeprimidos. Na prática, seu uso se faz muitas vezes de modo indiscriminado, resultando no aumento e disseminação de cepas resistentes aos antimicrobianos, podendo representar um grave problema de saúde pública, especialmente nos países emergentes.

Como resultados, podem ser citados diferentes situações como àquelas observadas no sudeste da Ásia, em *S. Typhi* com 50% de resistência ao cloranfenicol, tetraciclina e ampicilina, levando na opção terapêutica empírica a utilização de fluoroquinolonas, exceto em crianças nas quais estas drogas apresentam toxicidade, sendo substituídas por cefalosporinas de terceira geração, como, por exemplo, ceftriaxona.

Como abordagem da evolução histórica da resistência de *Salmonella* spp. aos antimicrobianos (Rodrigues, 2001), em nível de Brasil, inúmeras avaliações individuais, relacionadas ao seu monitoramento vêm sendo efetuadas desde a década de 1950, tendo Cisalpino (1957) analisado a sensibilidade de salmonelas isoladas a partir de 1947 e verificado o aumento progressivo de amostras resistentes. Entre as décadas de 1960 e 1970 esse percentual ascendeu, o que foi apontado por Costa *et al.* (1967) e Hofer *et al.* (1974). Durante os anos 1980, estudos realizados em diferentes regiões do país, com cepas de origem humana, alimentar, animal e ambiental, revelaram resistência simples ou múltipla em *Salmonella* spp, bem como capacidade de transferência desses marcos (Pessoa *et al.*, 1980; Queiroz *et al.*, 1985; Rodrigues *et al.*, 1985; Solari *et al.*, 1986; Câmara *et al.*, 1982; Farage, 1987). Resultados similares foram obtidos por Solari *et al.* (1984) em *S. Agona*; Campos & Hofer (1989) em



658 salmonelas de diversos sorovares e Reis (1994), em *S. Enteritidis*, nos quais foram analisadas cepas isoladas de várias fontes e regiões do país.

Na atualidade, tal condição vem apontando perspectivas sombrias no tratamento de infecções determinadas por enteropatógenos nas quais são empregadas as fluoroquinolonas e cefalosporinas de terceira geração. Particularmente em relação às salmonelas, Fonseca (2003), apontaram produção de beta-lactamases entre cepas de *S. Infantis*, isoladas no Rio de Janeiro e, entre 2000 e 2004, Mulvey *et al.* (2004) revelaram o aumento de multirresistência em *S. Agona*, incluindo a caracterização de novas beta-lactamases, do mesmo modo que Peirano *et al.* (2006) e Fonseca *et al.* (2006) em outros sorovares, incluindo a caracterização de integrons.

Os níveis e extensão da resistência são influenciados pelas práticas de uso de antimicrobianos no homem e animais e variam com a região geográfica. Nos países desenvolvidos, fenótipos de resistência a drogas observados em *Salmonella* têm sido associados com o uso de antimicrobianos em animais, onde os perfis de resistência geralmente refletem o tempo que uma droga está em uso e a reversão desta característica associada ao seu desuso (Aarestrup, 2004).

A emergência da resistência antimicrobiana em bactérias associadas com animais produtores de alimentos, particularmente naquelas de características zoonóticas, e a evidência de infecções humanas tendo como fontes tanto alimentos de origem vegetal quanto animal, tem compelido a comunidade científica e os profissionais de saúde pública a reavaliar os critérios que permitam o uso de antimicrobianos tanto na agricultura quanto na produção de alimentos de origem animal.

A fagotipagem representa uma importante ferramenta epidemiológica apontando a flutuação, emergência e reemergência de alguns fagotipos e possibilitando o reconhecimento daqueles circulantes ao longo do período, bem como aqueles com características epidêmicas. A literatura evidencia que a distribuição dos fagotipos de *S. Enteritidis* tem uma clara variação geográfica com predomínio dos tipos 4, 1, 6 e 8 na Europa e dos tipos 4, 8 e 13a no Canadá. Nos Estados Unidos da América há predomínio dos fagotipos 8, 13a, 13 e 14b e uma baixa frequência dos fagotipos 4 e 1. Estes dados indicam que os isolados pertencentes ao fagotipo 1 são próprios do continente europeu, enquanto o fagotipo 4 pode ser considerado de distribuição mundial (Gillespie *et al.* 2005; HPA, 2006; IASR, 2006), assumindo importância em surtos de origem alimentar. Em relação a *S. Typhimurium* salienta-se a relevância do fagotipo DT193 em surtos de transmissão alimentar em vários países (Usera *et al.* 2000; Gebreyes & Altier, 2002; Ghilardi *et al.* 2006).

O crescente isolamento de cepas de *Salmonella* apresentando resistência a um ou vários antimicrobianos a partir de fontes humanas e animais é considerado alarmante e se tem constituído um importante problema de Saúde Pública (Schoreter *et al.*, 2004; Larkin *et al.*, 2004; Varma *et al.*, 2005).

5. ENTEROCOCCUS E RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS

Os enterococos apresentam uma moderada resistência aos aminoglicosídeos resultando em uma MIC de 4 a 250 µg/ml (Standiford, deMaine, Kirby, 1970; Zimmerman, Moellering Jr, Weinberg, 1971; Zervos, Mikesell, Scharberg, 1986). Essa classe de antibióticos, quando utilizada em conjunto com os β-lactâmicos produzem um efeito bactericida.

Enterococos podem adquirir alto nível de resistência aos aminoglicosídeos por três mecanismos distintos: alteração do sítio-alvo no ribossomo, interferência no transporte do antibiótico e modificação enzimática do antibiótico. Os dois primeiros mecanismos ocorrem por mutação no cromossomo, enquanto o terceiro é geralmente mediado por plasmídeo (Couvartlin, Carlier, Collatz, 1980; Leclercq *et al.*, 1992). Em enterococos isolados de amostras clínicas, o alto nível de resistência é geralmente mediado pela presença de enzimas modificadoras de aminoglicosídeos. Entretanto, algumas cepas de *E. faecalis* com alto nível de resistência à estreptomicina podem ocorrer, sendo esta resistência também resultante de mutação do gene associado ao ribossomo (Eliopoulos *et al.*, 1984).

Enterococos com alto nível de resistência à estreptomicina e kanamicina foram primeiramente reportados em 1970. O reconhecimento da resistência para ambos os antimicrobianos favoreceu o uso da gentamicina na terapia combinada com a penicilina, para os casos de infecções graves (Moellering Jr *et al.*, 1970).



O alto nível de resistência à gentamicina foi reportado primeiramente em *E. faecalis* isolado na França em 1979 (Horodniceanu *et al.*, 1979), sendo agora uma resistência prevalente nessa espécie. Cepas com alto nível de resistência têm sido reportadas por centros de pesquisa na Europa, Japão, Estados Unidos, Canadá, Tailândia, Chile, Austrália e Argentina (Murray & Mederski-Samaroj, 1983; Zervos, Mikesell e Schaberg, 1986; Utley *et al.*, 1988; Smyth, Stevens e Holimann, 1989). Em 1988, três cepas de *E. faecium* não relacionadas, apresentando alto nível de resistência a gentamicina, estreptomicina, kanamicina e tobramicina, foram reportadas pela primeira vez (Eliopoulos *et al.*, 1988).

Os enterococos apresentam uma resistência intrínseca moderada para penicilina e ampicilina quando comparados com os estreptococos (Murray, 1991; Gray, Stewart, Peddler, 1991; Moellering Jr, 1992). Amostras de *E. faecalis* apresentam uma MIC para ampicilina e penicilina que variam de 1-8 µg/ml, enquanto *E. faecium* apresentam uma maior resistência, com MIC variando entre 8-64 µg/ml (Moellering Jr *et al.*, 1979; Murray, 1990; Murray, 1992). A resistência intrínseca, principalmente às cefalosporinas, parece ser devido a baixa afinidade das proteínas ligadoras de penicilina (PBP) pelo antimicrobiano. Essa resistência é diretamente proporcional à quantidade ou à afinidade da PBP5 (Fontana, 1985; Herman & Gerding, 1991; Moellering Jr, 1991; Fontana *et al.*, 1994; Leclercq & Couvarlin, 1997).

Os antimicrobianos β-lactâmicos apresentam ação bacteriostática contra os enterococos, necessitando da sua combinação com um aminoglicosídeo para se obter uma ação bactericida (Moellering Jr, Wennersten, Weinberg, 1971). Os primeiros relatos de cepas altamente resistentes à penicilina começaram a surgir no final da década de 1980 (Bush *et al.*, 1989; Sapico *et al.*, 1989).

A resistência adquirida aos β-lactâmicos pode ser devida à alteração das PBPs, atribuindo um nível de resistência mais elevado (MIC ≥ 128 µg/mL) do que aquele referente à resistência intrínseca entre os enterococos. Esse mecanismo confere resistência a todos os β-lactâmicos, incluindo carbapenems (Murray, 1990; Jones & Sader, 1993).

Um segundo mecanismo de resistência adquirida pode ser resultante da síntese da enzima β-lactamase (Leclercq & Couvarlin, 1997). A primeira cepa de *E. faecalis* produtora de β-lactamase foi isolada em 1981 nos Estados Unidos, sendo, posteriormente, isolada na Argentina e no Líbano (Murray, 1992). A resistência resultante da produção desta enzima é rara, normalmente mediada por plasmídeo e podendo estar associada com o alto nível de resistência à gentamicina (Murray, 1992).

Os antibióticos glicopeptídicos inibem a síntese da parede celular em bactérias Gram-positivas, pela interação com o grupamento terminal D-alanina-D-alanina (D-ala-D-ala), das cadeias laterais do pentapeptídeo precursor do peptídeoglicano (Dutka-Malen *et al.*, 1990; Johnson *et al.*, 1990; Shlaes & Binczewski, 1990). Este grupo de antibiótico é bacteriostático contra os enterococos e sua tolerância tem sido demonstrada (Mandell *et al.*, 1970; Krogstad & Parquette, 1980). Semelhante aos antimicrobianos ativos em parede celular, sua atividade bactericida é obtida quando este é combinado a um aminoglicosídeo (Mandell *et al.*, 1970; Krogstad & Parquette, 1980; Moellering Jr, 1991). Essa ação faz deste grupo de antibiótico, uma escolha apropriada para o tratamento de infecções graves por enterococos quando o uso de penicilina ou ampicilina é impedido por alergia ou resistência aos antibióticos β-lactâmicos (Mandell *et al.*, 1970; Krogstad & Parquette, 1980; Shlaes & Binczewski, 1990; Couvarlin, 1990; Moellering Jr, 1992).

Enterococos resistentes à vancomicina (VRE) não eram reconhecidos até 1988 quando relatos foram publicados na Inglaterra (Uttley *et al.*, 1988), França (Leclercq *et al.*, 1988) e Estados Unidos (Kaplan, Gilligan, Facklam, 1988). A partir de 1989, VRE passaram a ser identificados nos Estados Unidos através de um estudo realizado pelo "National Nosocomial Infections Surveillance System" - NNIS (CDC, 1993), no Reino Unido, França, Alemanha e Espanha (Uttley *et al.*, 1989; Woodford *et al.*, 1995; Woodford, 1998).

Estudos iniciais realizados com VRE classificaram esses microrganismos baseando-se nas características fenotípicas (Leclercq & Couvarlin, 1997). Primeiramente foram descritos os fenótipos VanA e VanB tanto para *E. faecalis* como para *E. faecium*. As características das cepas com fenótipo VanA são: alta resistência à vancomicina (CIM ≥ 64 µg/ml) e resistência à teicoplanina variando de moderada a alta



(CIM $\geq 16 \mu\text{g/ml}$) (Leclercq *et al.*, 1988; Couvarlin, 1990). Este fenótipo é freqüentemente mediado por um transposon, que é induzido pela presença de glicopeptídeos (vancomicina, teicoplanina, avoparcina e ristocetin) e por não-glicopeptídeos como bacitracina, polimixina B e robenidina. Estes últimos são antimicrobianos utilizados no tratamento de infecções em frangos de granja (Lai, 1996). O fenótipo VanA tem sido ocasionalmente detectado em outras espécies, incluindo *E. casseliflavus*, *E. gallinarum* e *E. durans* (Dutka-Malen *et al.*, 1994; Cercenado *et al.*, 1995; Jones *et al.*, 1995).

No fenótipo VanB as cepas apresentam um padrão de resistência para vancomicina cuja CIM pode variar de 4 a $\geq 1000 \mu\text{g/ml}$, mas mantendo suscetibilidade à teicoplanina (Quintiliani, Evers, Couvarlin, 1993; Boyce *et al.*, 1994). O fenótipo VanB se diferencia do VanA, por sofrer indução de resistência somente na presença da vancomicina e não na presença da teicoplanina.

Posteriormente aos fenótipos VanA e VanB, outros foram identificados como VanC, VanD e VanE. O fenótipo VanC apresenta baixo nível de resistência para vancomicina (CIM 4 a $32 \mu\text{g/ml}$) e são suscetíveis à teicoplanina, sendo uma propriedade inerente das espécies *E. gallinarum* e *E. casseliflavus* (Dutka-Malen *et al.*, 1994). Esta propriedade não é transferível e está relacionada com a presença de dois genes vanC-1 e vanC-2, respectiva e diretamente relacionados às espécies. Estas espécies parecem apresentar duas ligases e com isso apresentam duas terminações para a formação do pentapeptídeo precursor da parede celular, D-ala-D-ala e D-ala-D-serina. A presença destes dois precursores poderia explicar a ocorrência de cepas suscetíveis ou com baixo nível de resistência à vancomicina (Navarro & Couvarlin, 1994).

O fenótipo VanD foi detectado em uma cepa de *E. faecium*, que apresentou resistência moderada e constitutiva à vancomicina (CIM $\geq 64 \mu\text{g/ml}$), sendo baixo o nível de resistência para teicoplanina (CIM = $4 \mu\text{g/ml}$). Esta resistência não é transferível para outro enterococo. O seqüenciamento parcial do gene ligase deste fenótipo mostrou 69% de similaridade com os genes ligase vanA e vanB (Perichon, Reynolds, Couvarlin, 1997). Recentemente três cepas de *E. faecium* resistentes à vancomicina com fenótipo VanD foram isoladas em Boston (Ostrowsky *et al.*, 1999). O fenótipo VanE, foi descrito por Fines *et al.* (1999) e parece ser induzido e não, transferível, sendo detectado em uma cepa de *E. faecalis* que apresentou baixo nível de resistência à vancomicina (CIM = $16 \mu\text{g/ml}$) e suscetibilidade à teicoplanina (CIM = $0,5 \mu\text{g/ml}$). Este novo fenótipo tem similaridade com a resistência intrínseca do fenótipo VanC. O fenótipo VanG, descrito mais recentemente, foi detectado em uma cepa de *E. faecalis*, que apresentou moderado nível de resistência à vancomicina (CIM = $16 \mu\text{g/ml}$) e sensibilidade à teicoplanina, e nenhuma amplificação com a utilização de iniciadores específicos para os demais genótipos de resistência à vancomicina já descritos (Mc Kessar *et al.*, 2000).

Embora muito se tenha estudado sobre a epidemiologia do enterococo resistente à vancomicina (VRE), principalmente nos recentes anos, um consenso sobre qual seria o principal reservatório ainda não foi definido. Tem-se sugerido que a origem dos VRE é hospitalar, sendo posteriormente disseminados para a comunidade (Frieden *et al.*, 1993). Entretanto, uma cepa de *E. avium* resistente à vancomicina foi isolada de uma paciente de um hospital geral, no qual este antibiótico não vinha sendo utilizado há seis meses na rotina hospitalar (Rao *et al.*, 1992). Ademais, uma cepa de *E. faecium* resistente à vancomicina foi isolada de um paciente sem histórico de internação ou exposição a antibióticos (Gradon, 1994). Tais achados sugerem que a pressão seletiva que ocorre nos hospitais não é necessária para o surgimento de VRE. Os enterococos fazem parte da microbiota humana, portanto, tem sido reportado o isolamento de VRE em águas de esgoto (Klare *et al.*, 1993; Torres *et al.*, 1994; Bates, Jordens & Griffiths, 1994).

Bates *et al.* (1993) publicaram o primeiro relato sobre o isolamento de VRE fora do ambiente hospitalar, na área urbana da Inglaterra. Anos depois, os autores relataram o isolamento de VRE a partir de amostras de fezes de gado e de frangos não cozidos, comprados em lojas de varejo. Klare *et al.* (1993) relataram o isolamento de VRE em pequenas cidades da Alemanha, detectando-o em amostras de adubo originário de granjas ou fazendas de suínos. Em 1995, estes pesquisadores isolaram *E. faecium* VanA de carne de frangos e suínos congelados e de fezes humanas, de 12 entre 100 habitantes não hospitalizados, na área rural (Klare, Heier, Claus, Witte, 1995).



Posteriormente, Klare *et al.* (1995) sugeriram a relação do isolamento de VRE com o uso da avoparcina, um antibiótico do grupo dos glicopeptídeos, usado como promotor de crescimento no interior da Europa. A associação entre o isolamento de VRE a partir de alimentos animais, especialmente aves, e o uso da avoparcina tem sido confirmado por estudos epidemiológicos na Dinamarca (Aarestrup, 1995; Aarestrup *et al.*, 1996), Noruega (Kruse & Rorvik, 1996) e Suíça (Bogaard *et al.*, 1996). A ligação entre colonização de animais, utilizados para produtos alimentícios, e de humanos por VRE foi sugerida por Bates *et al.* (1993), devido ao isolamento de VRE com ribotipos idênticos de amostras humanas e de carcaça de frangos (Klare *et al.*, 1993).

A detecção de VRE em animais, como frangos e suínos utilizados para produção de alimentos, representa um importante achado epidemiológico da colonização e infecção em humanos. Portanto, VRE podem estar presentes em pessoas que não estão associadas com o ambiente hospitalar, como descrito por vários estudos realizados na Europa (Jordens, Bates, Griffiths, 1994; Donnelly *et al.*, 1996).

Por outro lado, nos Estados Unidos o ambiente hospitalar parece ser o maior reservatório de VRE em pacientes portadores no TGI (Boyce, 1997). Por sua vez, em um estudo realizado no Texas não se isolou VRE das fezes e de carcaças de frango (Murray, 1995; Murray, 1997).

Existem poucas evidências que sugerem a transmissão de VRE de adultos sãos para a comunidade (Murray, 1995; Bais, Freundlich, Currie, 1996; Coque *et al.*, 1996). Entretanto, dois casos de aparente infecção urinária por VRE, adquirida na comunidade, na cidade de Nova York, foram reportados (Friden *et al.*, 1993).

Apesar da proibição nos Estados Unidos e em vários países da Europa, o uso da avoparcina como aditivo alimentar foi liberado no Brasil por um período de 10 anos. A partir de 1998, a avoparcina foi retirada da agricultura brasileira (Leme, Ferreira e Pignatari, 1999).

No Brasil há poucos estudos com o objetivo de avaliar a presença do VRE fora do ambiente hospitalar. Recentemente foi publicada a avaliação do perfil de sensibilidade aos glicopeptídeos de enterococos isolados de aves comerciais, realizada no período de 1996 a 1997, em aviários próximos a cidade de São Paulo (Leme *et al.*, 2000). A suscetibilidade à avoparcina, teicoplanina e vancomicina foi determinada em duzentos e dezessete amostras de enterococos, isoladas de fezes de frango. Não foi detectado VRE entre as amostras analisadas, porém observou-se um porcentual alto no isolamento de *E. faecium* da microbiota fecal, em 52,8% dos frangos estudados. O isolamento de VRE a partir de fontes de alimento animal sugere que a transmissão para o homem por esta via possa ocorrer, porém provas conclusivas ainda não foram obtidas (Witte & Klare, 1995).

Superfícies de ambiente e equipamentos médicos do quarto aonde os pacientes se encontram frequentemente se tornam contaminados com VRE, podendo servir como um reservatório para o microrganismo hospitalar (Boyce *et al.*, 1994). Em poucas situações essa bactéria pode colonizar o trato gastrointestinal de profissionais da saúde, porém, o significado epidemiológico deste achado ainda não está claro (Handwerger *et al.*, 1993; Jordens, Bates, Griffiths, 1994).

A transmissão de VRE por profissionais da área da saúde, cujas mãos passam a estar temporariamente contaminadas com esta bactéria, para pacientes é possivelmente a forma mais comum de transmissão hospitalar (Huycke, Sham, Gilmore, 1998; Moellering Jr, 1992). Apesar da fonte, a transmissão pessoa a pessoa ou por fômites, tanto intra quanto inter-hospitalar, tem sido descrita na literatura (Murray, 1991; Karanfil *et al.*, 1992; Murray, 1992; Boyle, 1993).

A tetraciclina provavelmente penetra na célula bacteriana por difusão passiva e atua na subunidade ribossômica 30S, impedindo a ligação do tRNA, bloqueando o aporte de aminoácidos e resultando na inibição da síntese protéica. Um crescente número de espécies bacterianas tem adquirido resistência à atividade bacteriostática da tetraciclina (Fluit *et al.*, 2001). Essa resistência pode ser devido a alterações cromossômicas resultantes de mutação, afetando a permeabilidade da membrana externa ou adquirida, pela transferência de plasmídeos e transposons (Konemam, 1997; Quintiliani *et al.*, 1999). Diferentes genes conferindo resistência à tetraciclina têm sido encontrados, incluindo os genes



tetK, *tetL*, *tetM*, *tetO* e *tetS* (Burdett e col., 1982; Brunton, 1984; LeBlanc e col., 1988; Charpentier e col., 1993).

O cloranfenicol tem ação bacteriostática por inibição da síntese protéica. O antibiótico impede a ligação do RNA mensageiro ao ribossomo, por fixar-se na fração 30S do ribossomo, competindo com o ácido nucléico. Porém sua ação mais importante resulta de sua ligação a fração 50S do ribossomo, inibindo a ação da peptidiltransferase, bloqueando a união dos aminoácidos na formação do polipeptídeo (Murray, 1990; Tavares, 1996, Fluit e col., 2001).

O cloranfenicol é um antibiótico ativo contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Sua ampla atividade associada à facilidade de administração por via oral e relativo baixo custo, fizeram com que, juntamente com as tetraciclina, tornasse um dos antibióticos mais utilizados na clínica (Murray, 1990; Tavares, 1996, Fluit *et al.*, 2001). O principal mecanismo químico da resistência ao cloranfenicol, consiste na sua inativação enzimática, pela enzima cloranfenicol-acetiltransferase, produzida pelo gene *cat*. Detecção de resistência ao cloranfenicol por técnicas de biologia molecular não têm sido estudadas (Fluit *et al.*, 2001). O segundo mecanismo de importância na resistência ao cloranfenicol baseia-se na impermeabilidade do microorganismo à droga (Murray, 1990; Tavares, 1996).

Como os demais antibióticos macrolídeos, a eritromicina é bacteriostática, podendo tornar-se bactericida em concentrações elevadas ou em contato com microorganismos extremamente sensíveis. Atua por inibição da síntese de proteínas quando se ligar à fração 50S do ribossomo. O principal mecanismo de resistência consiste na modificação da unidade 50S do ribossomo bacteriano. Em enterococos, a resistência à eritromicina é freqüentemente mediada pelo gene *ermB*, seguido pelo gene *ermA* (Fluit *et al.*, 2001).

A quinupristina-dalfopristina é uma associação de duas estreptograminas, sendo uma do grupo A e uma do grupo B. Os componentes individuais têm ação bacteriostática, porém quando associados a combinação é freqüentemente bactericida. (Eliopoulos, 2003). Estes antimicrobianos penetram na célula bacteriana via difusão passiva e ligam-se à subunidade 50S do ribossomo. A resistência às estreptograminas pode ser cromossômica ou mediada por plasmídeos. Uma bomba de efluxo conferindo resistência à dalfopristina aparenta ser uma característica intrínseca de *E. faecalis*. Por isso, esta combinação quinupristina-dalfopristina é freqüentemente menos efetiva contra *E. faecalis* (Eliopoulos, 2003).

Os mecanismos de resistência bacteriana à estreptogramina B são difundidos entre os enterococos e mediados via gene *ermB*. Este mecanismo resulta na resistência da bactéria a todos os macrolídeos, lincosaminas e estreptograminas do grupo B, permanecendo sensíveis as estreptograminas do grupo A. (Eliopoulos, 2003).

A linezolida é o primeiro antibiótico da classe da oxazolidinona, e sua ação é bacteriostática. Atua por inibição da síntese de proteínas, ao ligar-se à fração 50S do ribossomo. O principal mecanismo de resistência consiste na modificação da unidade 50S do ribossoma bacteriano (Jones *et al.*, 2002).



PARTE II

PROGRAMA NACIONAL DE MONITORAMENTO DA PREVALÊNCIA E DA RESISTÊNCIA BACTERIANA EM FRANGO – PREBAF

1. HISTÓRICO

O PREBAF – Programa Nacional de Monitoramento da Prevalência e da Resistência Bacteriana em frango surgiu como resultado das discussões do Grupo de Trabalho sobre Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos, instituído pela ANVISA através da Resolução-RDC nº 5/2000, foram apresentadas propostas e recomendações com foco na avaliação de risco quanto ao uso de medicamentos veterinários em animais produtores de alimentos. Tais proposições constam do documento de base denominado “Medicamentos Veterinários e Saúde Pública: uma Proposta de Ação para a ANVISA, aprovada em 2001 pela Diretoria Colegiada.

Destaca-se como principal recomendação para as ações de vigilância sanitária em relação ao assunto, a implantação de dois programas de monitoramento, sendo um para avaliação de resíduos, iniciado em 2002 como “Programa de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos de Origem Animal – PAMVET, e outro para avaliação do perfil de resistência de bactérias isoladas em carne de frango, que foi traduzido no PREBAF relatado no presente documento. Especificamente em relação a este último, deveria ser instituído um programa de abrangência nacional, onde seria pesquisada a resistência de *Salmonella* e *Enterococcus* aos antimicrobianos em amostras colhidas no ponto de exposição ao consumo.

Com aprovação da Resolução-RDC ANVISA nº 12, de 02/01/01, que excluiu a obrigatoriedade da pesquisa de *Salmonella* sp em carnes *in natura* de aves, devido as limitações tecnológicas que impossibilitam garantir a ausência desse microrganismo no produto, tornou-se necessário implementar um Programa Nacional capaz de determinar a prevalência e a quantificação das espécies do gênero *Salmonella* nesse tipo de carne, como subsídio para futuras opções de gerenciamento de risco microbiológico em relação ao alimentos em questão. Como contrapartida à exclusão do parâmetro *Salmonella* sp determinou-se, por meio da Resolução-RDC nº 13, de 02/01/01, a exigência de apor dizeres de rotulagem, instruindo o consumidor sobre o adequado uso, preparo e conservação das carnes de aves.

Nesse contexto, o PREBAF foi desenhado pelas gerências envolvidas com o tema (GACTA e GICRA), tendo por foco a determinação da prevalência e quantificação das espécies do gênero *Salmonella* em carne de frango exposta ao consumo humano, bem como a verificação do cumprimento das disposições constantes da Resolução-RDC ANVISA nº 13/01. Ao mesmo tempo, num esforço para racionalizar recursos e otimizar resultados, definiu-se em um único Programa, por abordar também a pesquisa de prevalência e da resistência bacteriana de *Enterococcus spp*, a partir da mesma matriz de análise.

Nesse sentido, o presente documento fornece um detalhamento sobre o Programa, como parte da estratégia de ação da ANVISA para a área de alimentos, pautada nas parcerias com os Estados por meio das VISAs e LACENS.



2. INFORMAÇÕES TÉCNICAS

A prevenção da contaminação das aves apresenta como fatores limitantes a ampla distribuição da bactéria no ambiente e a existência freqüente de portadores assintomáticos. Nenhum outro processo de tratamento, exceto irradiação ionizante, eliminará a *Salmonella* da carcaça mantendo as características originais da carne crua com a manutenção das características das aves cruas. No entanto, a adoção de medidas higiênico-sanitárias no manuseio e processamento de aves, o controle de rações e alimentos desses animais, a rígida adoção de práticas higiênicas na criação, transporte e abate a distinta separação em nível industrial das operações com matérias-primas daquelas com produtos em processo ou terminados, a rigorosa adoção de programas de limpeza e desinfecção das instalações e equipamentos e a prevenção de contaminações cruzadas são medidas importantes que contribuem para a redução dos níveis de contaminação.

É crescente a preocupação mundial quanto ao aumento da resistência adquirida por espécies de bactérias a algumas moléculas com ação antimicrobiana de uso humano na produção de animais, reduzindo a disponibilidade de substâncias eficazes e indispensáveis ao tratamento e prevenção de doenças infecciosas. O aumento do uso dos antimicrobianos associados às inovações na tecnologia de produção, os novos métodos no processamento da carne de frango e sua grande comercialização contribuíram para o aumento da produtividade e a diminuição do tempo de produção e do custo. Por essa razão, esse alimento mais acessível passou a integrar significativamente a dieta brasileira e, conseqüentemente, aumentou a exposição do consumidor a agentes que podem significar um risco à saúde humana.

Os Enterococos, por sua vez, são bactérias consideradas agentes comensais comumente isolados do intestino grosso dos seres humanos, animais e meio ambiente. Nos últimos anos, entretanto, as espécies *E. faecalis* e *E. faecium* têm provocado surtos hospitalares de difícil controle, podendo causar infecções com limitadas opções terapêuticas, notadamente no caso de cepas resistentes a antimicrobianos tais como beta-lactâmicos, aminoglicosídeos e glicopeptídios. Estudos sobre a cadeia epidemiológica dos *Enterococcus* têm mostrado que animais produtores de alimento podem formar reservatórios de *Enterococcus* resistentes e contribuir, assim, para a disseminação da bactéria. Nesse sentido, *enterococos* resistentes têm sido isolados em carne de frango expostas ao consumo humano em diversos países.

Qualquer alimento que contém *Salmonella* é um risco potencial para o consumidor, cuja veiculação é facilitada, na atualidade, pela mudança nos hábitos alimentares da população. A necessidade cada vez mais intensa de produção/oferta de alimentos tem como fatores de risco, falhas quanto ao manuseio, transporte muitas vezes em condições inadequadas, aliados à ausência de critérios básicos de higiene e saneamento, os quais favorecem a disseminação (OMS,1988).

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

Elaboração de diagnóstico sobre os níveis de contaminação de *Salmonella spp* e *Enterococcus spp* em carne de frango comercializada no Brasil e a propagação de resistência antimicrobiana, com vistas a definição de medidas de intervenção.

3.2 Específicos

- Avaliar a prevalência, o número de organismos e o perfil de sensibilidade a antimicrobianos de cepas de *Salmonella spp.* isoladas em carcaças de frango expostas ao consumo.
- Avaliar o perfil de sensibilidade a antimicrobianos de cepas de *Enterococcus* isoladas em carne de frango expostas ao consumo.
- Verificar a adequação dos dizeres de rotulagem do produto quanto às exigências legais, com destaque à Resolução - RDC ANVISA nº 13/01.



4. MATERIAL E MÉTODOS

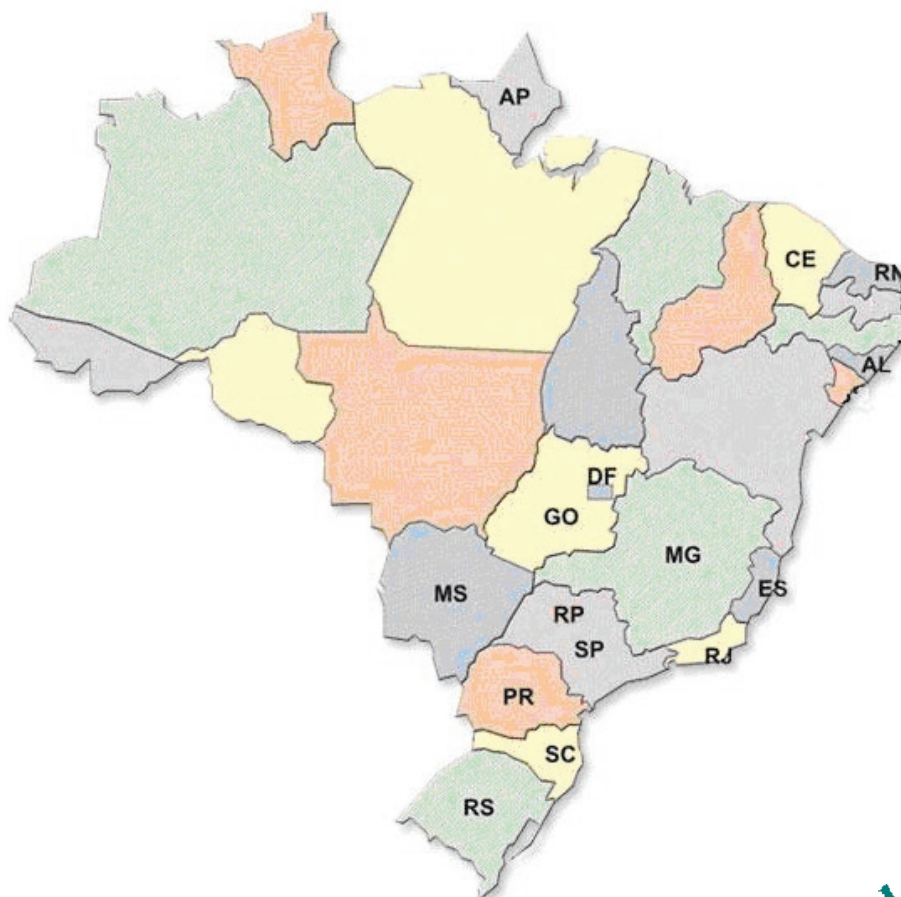
4.1 Plano amostral

4.1.1 Cobertura e período de execução

O PREBAF foi executado no período de agosto/2004 a julho/2006 em 13 Estados e no Distrito Federal (Alagoas, Amapá, Ceará, Distrito Federal, Espírito Santo, Goiás, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, Paraná, Rio de Janeiro, Rio Grande do Norte, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e São Paulo: Capital e Ribeirão Preto), cobrindo, portanto, as cinco grandes regiões do Brasil conforme ilustrado no mapa do Brasil logo a seguir. Esses Estados respondem em conjunto por 83% da produção brasileira de frango, que em 2005 foi da ordem de 4,42 bilhões de cabeças (Fonte: MAPA, IBGE). As amostras foram colhidas pelos órgãos de vigilâncias sanitárias - VISAs de

NORTE	NORDESTE	C.-OESTE	SUDESTE	SUL
1. AP Amapá	2. AL Alagoas 3. CE Ceará 4. RN Rio G. do Norte	5. DF Distrito Federal 6. GO Goiás 7. MS Mato Grosso do Sul	8.ES Espírito Santo 9. MG Minas Gerais 10. RJ Rio de Janeiro 11. SP São Paulo (Capital) e município de Ribeirão Preto	12. PR Paraná 13. SC Santa Catarina 14. RS Rio Grande do Sul

Mapa do Brasil e área de cobertura do PREBAF



4.1.2 Número e tipo de amostras

Neste programa de monitoramento, os parâmetros selecionados foram a prevalência esperada de 10%, um nível de confiança de 90% e margem de erro admitido de 1%. Isso significaria processar 2429 unidades amostrais utilizando-se como referência o Quadro 5. Foi definida como meta para cada estado a colheita de 10 unidades amostrais de frango por mês, durante um ano e meio (18 meses). Em São Paulo a meta estabelecida foi de 20 amostras/mês, distribuídas entre a capital e a cidade de Ribeirão Preto. Com isso o número total de unidades amostrais foi de 2710, dando-se assim uma margem maior à representatividade da pesquisa.

Quadro 5. Número de amostras em função da prevalência de resistência esperada na população.

Prevalência Esperada	Nível de confiança					
	90%			95%		
	Margem de erro admitida			Margem de erro admitida		
	10%	5%	1%	10%	5%	1%
10%	24	97	2429	35	138	3445
20%	43	173	4310	61	246	6109
30%	57	227	5650	81	323	8003
40%	65	260	6451	92	369	9135
50%	68	270	6718	96	384	9512
60%	65	260	6451	92	369	9135
70%	57	227	5650	81	323	8003
80%	43	173	4310	61	246	6109
90%	24	97	2429	35	138	3445

Fonte: OIE - 2000

4.2 Procedimentos de Amostragem e de Análise

Os procedimentos de colheita e amostragem foram realizados pelas VISAs e estavam descritos no POP específico: Colheita de Amostras e Medidas de Intervenção – GICRA/GGALI, onde constavam as seguintes informações:

- Marca;
- Fabricante;
- Endereço;
- Local de coleta;
- Endereço;
- Adequação (ou não) aos dizeres de rotulagem;
- *Salmonella* (ausência ou presença);
- *Enterococcus* em análises com e sem vancomicina (presença ou ausência).

Os dados recebidos foram tabelados utilizando-se o programa Epi-Info (™) - Database and statistics software for public health professionals. Versão 26/04/2004.

As amostras para avaliação de *Salmonella* foram recebidas e processadas conforme estabelecido no Procedimento Operacional Padrão – POP, do INCQS: Recepção e Processamento Inicial de Amostras de Carcaças Congeladas de Frango. Cada unidade do produto foi analisada individualmente, não sendo possível a mistura das alíquotas retiradas de cada unidade amostral. Uma das 05 unidades de amostra de mesma marca foi analisada utilizando-se metodologia quantitativa conforme descrito no POP do INCQS: Pesquisa e Contagem de *Salmonella* sp. em Carcaças Congeladas de Frango. As



demais amostras colhidas foram analisadas seguindo somente a metodologia qualitativa, descrita no POP acima.

As amostras para avaliação de Enterococos foram analisadas utilizando-se metodologia qualitativa conforme descrito no POP do IAL: Pesquisa de *Enterococcus* sp. em Carcaças Congeladas de Frango.

As cepas isoladas de *Salmonella* e *Enterococcus* foram encaminhadas, respectivamente, ao Instituto Oswaldo Cruz – IOC e Instituto Adolfo Lutz – IAL, de acordo com os respectivos POPs (Manutenção de Cepa de Enterococo para ser Enviada ao Laboratório de Referência e Transporte de substâncias infecciosas para o laboratório de referência.

Em relação à rotulagem, o Laboratório encaminhou os laudos sobre a análise de rotulagem para a VISA responsável pela colheita da amostra, seguindo as instruções constantes do POP: Colheita de Amostras e Medidas de Intervenção – GICRA/GGALI.

Para a análise de *Salmonella*, cada laboratório enviou mensalmente as planilhas com os resultados das análises quantitativas e qualitativas para a VISA do estado correspondente, que seguiu as instruções constantes do POP: Colheita de Amostras e Medidas de Intervenção – GICRA/GGALI. A VISA, por sua vez, encaminhou as planilhas para GGALI/ANVISA, que consolidou os resultados. Quanto aos resultados referentes à identificação de espécies e resistência, o Laboratório de Enterobactérias do IOC os encaminhou à GGALI/ANVISA e ao LACEN do estado correspondente às cepas recebidas.

Na análise de *Enterococcus* o fluxo foi idêntico ao de *Salmonella*, sendo que as análises de identificação de espécies e de perfil de foram realizadas pelo IAL/SP. A metodologia utilizada para identificação de genes de interesse, tanto em *Salmonella* quanto em *Enterococcus*, foi realizada por PCR.

O nível de sensibilidade a antimicrobianos, dos microorganismos *Enterococcus* e *Salmonella*, foi avaliado por meio da determinação da concentração inibitória mínima (CIM) por microdiluição em caldo ou diluição em agar, com base na metodologia recomendada pelo National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 2003).

A escolha dos antimicrobianos testados foi baseada nos seguintes critérios:

- importância de seu uso em medicina humana;
- situação de resistência ocorrente e de interesse do país;
- utilização de antimicrobianos em medicina veterinária que possam desenvolver resistência cruzada a antimicrobianos usados em medicina humana.

Para avaliação da resistência de *Salmonella* sp. e *Enterococcus*, originalmente foram selecionados os seguintes antimicrobianos:

Para *Salmonella*: ampicilina, ceftriaxona, ceftazidina, cefepime, tetraciclina, ceftazidima/ác. clavulâmico, cefotaxima/ác. clavulâmico, gentamicina, estreptomina, cloranfenicol, florfenicol, sulfonamida, trimetoprim, sulfametoxazol/trimetoprim, ác. nalidixico, ciprofloxacina, enrofloxacina, imipenem, meropenem, nitrofurantoína e aztreonam.

Para *Enterococcus* sp: ampicilina, vancomicina, teicoplanina, gentamicina, estreptomina, enrofloxacina, ciprofloxacina, eritromicina, cloranfenicol, tetraciclina, linezolida, oxitetraciclina, virginamicina e quinopristina/dalfopristina.

As cepas de *Enterococcus* foram armazenadas após processo de liofilização e as de *Salmonella* em meio de caldo BHI acrescido de 15% de glicerol, a – 70°C.

Considerando os critérios de localização geográfica, capacidade operacional, recursos humanos, equipamentos e instalações físicas (lay out básico), adequação ao sistema de garantia da qualidade e relação com a Vigilância Sanitária, foram selecionados os seguintes laboratórios:



Laboratório	<i>Enterococcus</i>				<i>Salmonella</i>			
	(1)	(2)	(3)	(4)	(1)	(2)	(3)	(4)
IAL	x	x	x	x	x			
IOC						x	x	x
LACEN AL	x				x			
LACEN AP	x				x			
LACEN CE	x				x			
LACEN DF	x				x			
LACEN GO	x				x			
LACEN MG	x				x			
LACEN MS	x				x			
LACEN PR	x				x			
LACEN RJ	x				x			
LACEN RN	x				x			
LACEN ES	x				x			
LACEN RS	x				x			
LACEN SC	x				x			
IAL Rib. Preto	x				x			

Legenda: (1) Isolamento; (2) Identificação de espécies; (3) Testes de sensibilidade; (4) Identificação de genes.

4.3 Plano de Análise de Salmonela

Foram recebidas um total de 262 cepas resultantes da análise de 2710 efetuadas no período de 22/09/2004 a 28/07/2006 pelos dezesseis Laboratórios participantes do Programa PREBAF, localizados em diferentes regiões do país, (Quadro 3) e encaminhadas ao LRNCEB/ IOC/ FIOCRUZ-RJ para caracterização feno e genotípica.

As cepas foram remetidas em meio de conservação Agar Nutriente Tamponado à temperatura ambiente, dentro das normas internacionais de transporte de amostras para diagnóstico.

4.3.1 Recepção das cepas, reisolamento e identificação bioquímica

Após a recepção, todas as informações recebidas foram inseridas em Banco de dados (Excel). Partindo do meio de conservação, as cepas foram inicialmente reisoladas, a partir do crescimento em Caldo Nutriente e, após incubação 18-24h/37°C, semeadura em Agar Entérico Hektoen. Em etapa subsequente, procedeu-se caracterização de gênero e espécies, através da confirmação bioquímica presuntiva em meio de triagem de Costa & Vernin – CV e Agar Lisina-Ferro a partir dos quais foi avaliado seu perfil metabólico. Para tal foram avaliadas as características quanto a fermentação de carboidratos e correlatos tais como: lactose, manitol, dulcitol, salicina e sacarose; descarboxilação da lisina e ornitina; ausência da produção de indol e produção de sulfeto de hidrogênio em meio de SIM, utilização do citrato, tartarato, malonato, o qual permitiu a identificação conclusiva do gênero e da espécie. Paralelamente as cepas foram transferidas para meio de conservação e mantidas a temperatura de -70°C.



Culturas com perfil compatível com *Salmonella* foram submetidas a caracterização antigênica, reconhecendo-se a presença de frações somáticas eventualmente presentes; lisotipia, considerando os sorovares Enteritidis e Typhimurium e teste de suscetibilidade aos antimicrobianos empregados nas áreas humana e veterinária, através da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM).

4.3.2 Caracterização antigênica

Realizada através da técnica de soro-aglutinação rápida, em lâmina, com antissoros poli e monovalentes, somáticos e flagelares, preparados no Laboratório Referência Nacional Cólera & Enteropatógenos Bacterianos - Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Rio de Janeiro.

4.3.3 Fagotipagem

A avaliação dos fagotipos foi realizada utilizando preparados fágicos fornecidos pelo Centro de Referência Internacional de Fagotipagem (Colindale, Inglaterra). Para tal, as cepas foram submetidas a crescimento em caldo Fago, Quando atingirem turbidez semelhante ao tubo nº 05 da escala de MacFarland foi efetuada a semeadura em Agar Fago e, em seguida, gotejados 10µL de cada um dos preparados fágicos específicos. Após absorção, foi efetuada a incubação a 37°C/18h e leitura da lise (confluente, opaca, semiconfluente e número de placas de lise).

4.3.4 Perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos

O perfil de resistência aos antimicrobianos foi avaliado através da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) por microdiluição em caldo, com base na metodologia descrita pelo CLSI (2004-2006), utilizando-se 18 fármacos representativos das classes de antimicrobianos: beta-lactâmicos (penicilinas, monobactâmicos, cefaloporinas (1ª, 2ª e 3ª gerações); fenicóis; tetraciclina; quinolonas; aminoglicosídeos; antifolatos e nitrofuranos (Quadro 4). O critério de escolha tomou por base drogas empregadas sob o ponto de vista humano e veterinário e a orientação da OMS (CLSI, 2004-2006), quanto aos antimicrobianos utilizados no monitoramento da resistência bacteriana. Para o controle na qualidade de execução e confiabilidade dos resultados obtidos, cepas padrão (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) foram testadas sob as mesmas condições de meios de cultivo e incubação.

4.4 Plano de Análise de Enterococos

4.4.1 Recebimento das amostras

Um total de 11.033 colônias com identificação presuntiva para o gênero *Enterococcus*, foi enviado ao Instituto Adolfo Lutz para identificação da espécie, determinação do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos e pesquisa dos genes de resistência para vancomicina. Cepas padrões de referência foram utilizadas como controle nos testes fenotípicos e genotípicos: *E. faecalis* ATCC 29212, *E. faecium* 228 (vanA); *E. faecalis* ATCC 51299 (vanB); *E. gallinarum* NCTC 12359 (vanC-1) e *E. casseliflavus* NCTC 1261 (vanC-2).

4.4.2 Identificação

A identificação das amostras em gênero e espécie segue as provas bioquímicas padronizados internacionalmente por Facklam & Carey (1985); Facklam & Collins (1989); Facklam & Sahn (1995) e Facklam, Sham, Teixeira (1999).

Após confirmação da espécie bacteriana, as amostras de enterococos foram liofilizadas (High Vacuum Freeze Dryer Super Modulyo, Edwards, Sussex, Inglaterra) em leite desnatado a 20% e mantidas também congeladas em freezer -20°C e devidamente catalogadas.



4.4.3 Ensaios de determinação

Para os ensaios de determinação da CIM, utilizou-se a técnica de microdiluição em caldo, conforme recomendações do CLSI (2006). As cepas foram avaliadas frente a 9 antimicrobianos: vancomicina (VC), teicoplanina (TC), ampicilina (AM), ciprofloxacina (CI), tetraciclina (TT), eritromicina (ERI), clo-ranfenicol (CLO), linezolidina (LNZ) e quinupristina-dalfopristina (QD). Todas as cepas foram testadas para a detecção de alto nível de resistência aos aminoglicosídeos, gentamicina (GEN) e estreptomici-na (STR), conforme técnica descrita pelo manual CLSI (2006).

4.4.4 Caracterização genética

A caracterização genética das espécies *E. faecalis* e *E. faecium*, pela detecção de genes específicos para cada espécie foi realizada pela técnica de reação da polimerase em cadeia (PCR), utilizada para amplificação dos genes *ddl* que codificam as ligases D-alanina, espécie-específicas (Dutka-Malen e col. 1995). Para a confirmação genética do fenótipo VanA geneticamente foi também utilizada a técnica da PCR. Utilizaram-se sondas dos genes *vanA* (Dutka-Malen *et al.*, 1990) assim como, as son-das para *vanB* (Quintiliani, Evers, Couvarlin, 1993), *vanC-1* e *VanC-2* específicos para *E. gallinarum* (Leclercq *et al.*, 1992), *E. casseliflavus* (Navarro & Couvarlin, 1994), respectivamente.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Situação Extraída dos Relatórios dos Estados (Visa e Lacen)

5.1.1 Alagoas

Das 180 unidades amostrais coletadas pela VISA-AL, 179 foram efetivamente analisadas pelo LA-CEN-AL, já que uma delas foi extraviada e/ou descartada para análise. Os dados obtidos estão apre-sentados nas Tabelas 1 e 2, num total de 36 laudos emitidos, sendo observada a presença de salmo-nela em 8 amostras (4,46%). Em relação a rotulagem foi encontrado o seguinte resultado: análises satisfatórias = 77,78%; insatisfatórias = 8,33%; indefinidas = 13,89%. As análises de enterococos (com vancomicina) foram positivas em 109 unidades amostrais (60,55%) ao passo que, na ausência de vancomicina, o número de unidades amostrais positivas aumentou para 160 (88,88%), percentu-al este considerado como sendo a presença real encontrada de enterococos no monitoramento em Alagoas.

Tabela 1: ESTADO: ALAGOAS – VARIÁVEL AVALIADA – SALMONELLA

Lacen	Rotulagem	UF origem	Salmonella	Salmonella (presença)	Salmonella (ausência)
1. AL	satisfatória	RS	AUSENTE	0	5
2. AL	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
3. AL	satisfatória	PE	AUSENTE	0	5
4. AL	satisfatória	PE	AUSENTE	0	5
5. AL	satisfatória	MG	AUSENTE	0	5
6. AL	satisfatória	PE	AUSENTE	0	5
7. AL	satisfatória	MG	AUSENTE	0	5
8. AL	satisfatória	AL	AUSENTE	0	5
9. AL	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
10. AL	satisfatória	PE	AUSENTE	0	5
11. AL	insatisfatória	PE	AUSENTE	0	5
12. AL	satisfatória	PE	AUSENTE	0	5
13. AL	satisfatória	MG	AUSENTE	0	5
14. AL	satisfatória	BA	AUSENTE	0	5



15.	AL	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
16.	AL	satisfatória	PE	AUSENTE	0	5
17.	AL	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
18.	AL	insatisfatória	PE	AUSENTE	0	5
19.	AL	satisfatória	PE	AUSENTE	0	5
20.	AL	insatisfatória	AL	AUSENTE	0	5
21.	AL	indefinida	BA	AUSENTE	0	5
22.	AL	indefinida	PE	PRESENTE	4	1
23.	AL	indefinida	RS	AUSENTE	0	5
24.	AL	indefinida	SP	PRESENTE	1	4
25.	AL	indefinida	SP	AUSENTE	0	5
26.	AL	satisfatória	BA	AUSENTE	0	5
27.	AL	satisfatória	MT	AUSENTE	0	5
28.	AL	satisfatória	PE	AUSENTE	0	5
29.	AL	satisfatória	BA	AUSENTE	0	5
30.	AL	satisfatória	PE	AUSENTE	0	5
31.	AL	satisfatória	PE	PRESENTE	1	3
32.	AL	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
33.	AL	satisfatória	PE	AUSENTE	0	5
34.	AL	satisfatória	PE	AUSENTE	0	5
35.	AL	satisfatória	PE	PRESENTE	2	3
36.	AL	satisfatória	PE	AUSENTE	0	5
TOTAL					8	171

Rotulagem		
Conclusão do Laudo	Nº	%
Satisfatória	28	77,78
Insatisfatória	3	8,33
Indefinida	5	13,89
Total	36	100,00

Tabela 2: ESTADO: ALAGOAS – VARIÁVEL AVALIADA: ENTEROCOCCUS

Lacen	Enterococcus com vancomicina (presença)	Enterococcus com vancomicina (ausência)	Enterococcus sem vancomicina (presença)	Enterococcus sem vancomicina (ausência)
1. AL	0	5	5	0
2. AL	5	0	5	0
3. AL	5	0	0	5
4. AL	0	5	0	5
5. AL	0	5	5	0
6. AL	4	1	5	0
7. AL	1	4	3	2
8. AL	5	0	5	0
9. AL	3	2	5	0
10. AL	0	5	5	0
11. AL	0	5	5	0
12. AL	5	0	5	0



13.	AL	5	0	5	0
14.	AL	2	3	5	0
15.	AL	2	3	5	0
16.	AL	4	1	5	0
17.	AL	4	1	5	0
18.	AL	2	3	2	3
19.	AL	4	1	5	0
20.	AL	0	5	4	1
21.	AL	3	2	5	0
22.	AL	5	0	5	0
23.	AL	2	3	5	0
24.	AL	1	4	3	2
25.	AL	2	3	4	1
26.	AL	3	2	4	1
27.	AL	5	0	5	0
28.	AL	4	1	5	0
29.	AL	2	3	5	0
30.	AL	4	1	5	0
31.	AL	5	0	5	0
32.	AL	5	0	5	0
33.	AL	3	2	5	0
34.	AL	4	1	5	0
35.	AL	5	0	5	0
36.	AL	5	0	5	0
TOTAL		109	71	160	20
		180		180	

5.1.2 Amapá

Os dados obtidos no Estado do Amapá, que coletou e analisou 200 unidades amostrais, portanto acima da meta de 180 inicialmente estipulada, mostram que a salmonela foi detectada em 6 amostras (3%). Em relação à rotulagem, constatou-se que todas as amostras (100%) apresentaram conformidade com a legislação de referência. Em presença de vancomicina, 83 amostras, que corresponde a menos da metade do total analisado (41,5%) apresentaram ausência de enterococos, enquanto que na ausência de vancomicina, a presença de enterococos foi detectada em 174 amostras (87%). Os resultados são apresentados nas Tabelas 3 e 4.

Tabela 3: ESTADO: AMAPÁ - VARIÁVEL AVALIADA - SALMONELLA

Lacen	Rotulagem	UF origem	Salmonella	Salmonella presença	Salmonella ausência	
1.	AP	satisfatória	RS	AUSENTE	0	5
2.	AP	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
3.	AP	satisfatória	PR	PRESENTE	1	4
4.	AP	satisfatória	SC	AUSENTE	0	5
5.	AP	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
6.	AP	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
7.	AP	satisfatória	PA	AUSENTE	0	5
8.	AP	satisfatória	AP	AUSENTE	0	5
9.	AP	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
10.	AP	satisfatória	MT	AUSENTE	0	5
11.	AP	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
12.	AP	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
13.	AP	satisfatória	AP	AUSENTE	0	5



14.	AP	satisfatória	MS	PRESENTE	1	4
15.	AP	satisfatória	PA	AUSENTE	0	5
16.	AP	satisfatória	PA	AUSENTE	0	5
17.	AP	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
18.	AP	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
19.	AP	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
20.	AP	satisfatória	SP	PRESENTE	2	3
21.	AP	satisfatória	MT	AUSENTE	0	5
22.	AP	satisfatória	SC	AUSENTE	0	5
23.	AP	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
24.	AP	satisfatória	SC	AUSENTE	0	5
25.	AP	satisfatória	PA	AUSENTE	0	5
26.	AP	satisfatória	PA	AUSENTE	0	5
27.	AP	satisfatória	RS	AUSENTE	0	5
28.	AP	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
29.	AP	satisfatória	PR	PRESENTE	1	4
30.	AP	satisfatória	PA	AUSENTE	0	5
31.	AP	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
32.	AP	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
33.	AP	satisfatória	PA	AUSENTE	0	5
34.	AP	satisfatória	PA	AUSENTE	0	5
35.	AP	satisfatória	SC	AUSENTE	0	5
36.	AP	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
37.	AP	satisfatória	SP	PRESENTE	1	4
38.	AP	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
39.	AP	Satisfatória	RS	AUSENTE	0	5
40.	AP	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
TOTAL					6	194
					200	

Rotulagem		
Conclusão do Laudo	Nº	%
Satisfatória	40	100
Insatisfatória	0	0
Indefinida	0	0
Total	40	100



Tabela 4: ESTADO: AMAPÁ – VARIÁVEL AVALIADA: ENTEROCOCCUS

Lacen	Enterococcus com vancomicina (presença)	Enterococcus com vancomicina (ausência)	Enterococcus sem vancomicina (presença)	Enterococcus sem vancomicina (ausência)
1. AP	0	5	5	0
2. AP	0	5	5	0
3. AP	1	4	5	0
4. AP	1	4	5	0
5. AP	2	3	5	0
6. AP	2	3	5	0
7. AP	1	4	5	0
8. AP	1	4	3	2
9. AP	0	5	2	3
10. AP	0	5	2	3
11. AP	0	5	1	4
12. AP	0	5	0	5
13. AP	3	2	3	2
14. AP	3	2	4	1
15. AP	3	2	3	2
16. AP	1	4	3	2
17. AP	3	2	5	0
18. AP	5	0	5	0
19. AP	5	0	5	0
20. AP	5	0	5	0
21. AP	5	0	5	0
22. AP	5	0	5	0
23. AP	2	3	5	0
24. AP	3	2	5	0
25. AP	2	3	5	0
26. AP	1	4	5	0
27. AP	3	2	5	0
28. AP	5	0	5	0
29. AP	5	0	5	0
30. AP	5	0	5	0
31. AP	4	1	5	0
32. AP	5	0	5	0
33. AP	3	2	5	0
34. AP	5	0	5	0
35. AP	3	2	5	0
36. AP	5	0	5	0
37. AP	5	0	5	0
38. AP	5	0	5	0
39. AP	0	5	5	0
40. AP	0	5	5	0
TOTAL	107	83	176	24
	200		200	



5.1.3 Ceará

O Estado do Ceará realizou análises em 180 unidades amostrais. Em relação à salmonela, foi detectada a presença em 5 (2,78%) amostras analisadas. Na questão rotulagem, constatou-se que 77,78% dos laudos estavam em concordância com a legislação de referência. Na presença de vancomicina, enterococos foi positivo em 71 amostras (39,44%), enquanto na ausência de vancomicina a positividade ocorreu em 174 amostras (96,66%). Os resultados estão apresentados nas Tabelas 5 e 6.

Tabela 5: ESTADO: CEARÁ - VARIÁVEL AVALIADA - SALMONELLA

Lacen	Rotulagem	UF origem	Salmonella	Salmonella (presença)	Salmonella (ausência)	
1.	CE	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
2.	CE	insatisfatória	CE	AUSENTE	0	5
3.	CE	satisfatória	SC	AUSENTE	0	5
4.	CE	satisfatória	PE	AUSENTE	0	5
5.	CE	satisfatória	PE	AUSENTE	0	5
6.	CE	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
7.	CE	satisfatória	MT	AUSENTE	0	5
8.	CE	satisfatória	BA	AUSENTE	0	5
9.	CE	insatisfatória	RS	AUSENTE	0	5
10.	CE	insatisfatória	PE	AUSENTE	0	5
11.	CE	satisfatória	RS	AUSENTE	0	5
12.	CE	satisfatória	MT	AUSENTE	0	5
13.	CE	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
14.	CE	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
15.	CE	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
16.	CE	satisfatória	SP	PRESENTE	1	4
17.	CE	insatisfatória	PE	AUSENTE	0	5
18.	CE	satisfatória	CE	AUSENTE	0	5
19.	CE	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
20.	CE	satisfatória	SP	PRESENTE	2	3
21.	CE	satisfatória	PE	PRESENTE	1	4
22.	CE	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
23.	CE	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
24.	CE	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
25.	CE	insatisfatória	PE	AUSENTE	0	5
26.	CE	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
27.	CE	insatisfatória	CE	AUSENTE	0	5
28.	CE	satisfatória	PE	AUSENTE	0	5
29.	CE	insatisfatória	PE	AUSENTE	0	5
30.	CE	satisfatória	MG	AUSENTE	0	5
31.	CE	insatisfatória	PE	AUSENTE	0	5
32.	CE	satisfatória	PE	AUSENTE	0	5
33.	CE	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
34.	CE	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
35.	CE	satisfatória	MT	AUSENTE	0	5
36.	CE	satisfatória	CE	PRESENTE	1	4
TOTAL				5	175	
				180		



Rotulagem		
Conclusão do Laudo	Nº	%
Satisfatória	28	77,78
Insatisfatória	8	22,22
Indefinida	0	0
Total	36	100

Tabela 6: ESTADO: CEARÁ - VARIÁVEL AVALIADA - ENTEROCOCCUS

Lacen	Enterococcus com vancomicina (presença)	Enterococcus com vancomicina (ausência)	Enterococcus sem vancomicina (presença)	Enterococcus sem vancomicina (ausência)
1. CE	2	3	5	0
2. CE	4	1	5	0
3. CE	0	5	5	0
4. CE	0	5	5	0
5. CE	0	5	5	0
6. CE	0	5	5	0
7. CE	0	5	5	0
8. CE	0	5	5	0
9. CE	0	5	5	0
10. CE	0	5	5	0
11. CE	3	2	5	0
12. CE	1	4	5	0
13. CE	5	0	5	0
14. CE	5	0	5	0
15. CE	5	0	5	0
16. CE	2	3	5	0
17. CE	0	5	5	0
18. CE	2	3	5	0
19. CE	0	5	5	0
20. CE	1	4	5	0
21. CE	2	3	5	0
22. CE	2	3	5	0
23. CE	5	0	5	0
24. CE	2	3	5	0
25. CE	4	1	5	0
26. CE	1	4	5	0
27. CE	1	4	4	1
28. CE	1	4	2	3
29. CE	2	3	5	0
30. CE	4	1	5	0
31. CE	1	4	4	1
32. CE	2	3	4	1
33. CE	1	4	5	0
34. CE	3	2	5	0
35. CE	5	0	5	0
36. CE	5	0	5	0
TOTAL	71	109	174	6
	180		180	



5.1.4 Distrito Federal

As Tabelas 7 e 8 apresentam os resultados obtidos pela coleta de amostras realizada pela VISA-DF e as análises realizadas pelo LACEN-DF. Constatou-se a ocorrência de salmonela em apenas 3 das 177 amostras avaliadas (1,7%). A rotulagem foi considerada satisfatória em 100% das análises. A presença de enterococos em meio com vancomicina foi de 123 (69,49%), contra 152 amostras (85,88%) de positividade para as análises realizadas no meio sem vancomicina.

Tabela 7: DISTRITO FEDERAL - VARIÁVEL AVALIADA - SALMONELLA

Lacen	Rotulagem	UF origem	Salmonella	Salmonella (presença)	Salmonella (ausência)	
1.	DF	satisfatória	MG	AUSENTE	0	4
2.	DF	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
3.	DF	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
4.	DF	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
5.	DF	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
6.	DF	satisfatória	PR	AUSENTE	0	4
7.	DF	satisfatória	MG	AUSENTE	0	5
8.	DF	satisfatória	DF	AUSENTE	0	5
9.	DF	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
10.	DF	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
11.	DF	satisfatória	DF	AUSENTE	0	5
12.	DF	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
13.	DF	satisfatória	MG	AUSENTE	0	5
14.	DF	satisfatória	PR	AUSENTE	0	4
15.	DF	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
16.	DF	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
17.	DF	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
18.	DF	satisfatória	MG	AUSENTE	0	5
19.	DF	satisfatória	DF	AUSENTE	0	5
20.	DF	satisfatória	MG	AUSENTE	0	5
21.	DF	satisfatória	MG	AUSENTE	0	5
22.	DF	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
23.	DF	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
24.	DF	satisfatória	DF	AUSENTE	0	5
25.	DF	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
26.	DF	satisfatória	DF	PRESENTE	1	4
27.	DF	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
28.	DF	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
29.	DF	satisfatória	MG	AUSENTE	0	5
30.	DF	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
31.	DF	satisfatória	SP	PRESENTE	2	3
32.	DF	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
33.	DF	satisfatória	MG	AUSENTE	0	5
34.	DF	satisfatória	DF	AUSENTE	0	5
35.	DF	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
36.	DF	satisfatória	DF	AUSENTE	0	5
TOTAL				3	174	
				177		



Rotulagem		
Conclusão do Laudo	Nº	%
Satisfatória	36	100
Insatisfatória	0	0
Indefinida	0	0
Total	36	100

Tabela 8: DISTRITO FEDERAL - VARIÁVEL AVALIADA - ENTEROCOCCUS

Lacen	Enterococcus com vancomicina (presença)	Enterococcus com vancomicina (ausência)	Enterococcus sem vancomicina (presença)	Enterococcus sem vancomicina (ausência)
1. DF	3	1	4	0
2. DF	2	3	5	0
3. DF	1	4	4	1
4. DF	3	2	4	1
5. DF	3	2	4	1
6. DF	3	2	2	3
7. DF	3	2	1	4
8. DF	1	4	2	3
9. DF	4	1	5	0
10. DF	5	0	5	0
11. DF	2	3	2	3
12. DF	5	0	4	1
13. DF	0	5	4	1
14. DF	4	0	4	0
15. DF	4	1	4	1
16. DF	4	1	5	0
17. DF	5	0	4	1
18. DF	4	1	5	0
19. DF	4	1	5	0
20. DF	5	0	5	0
21. DF	4	1	5	0
22. DF	5	0	4	0
23. DF	5	0	5	0
24. DF	4	1	5	0
25. DF	5	0	5	0
26. DF	5	0	5	0
27. DF	5	0	5	0
28. DF	0	5	4	1
29. DF	5	0	5	0
30. DF	0	5	1	4
31. DF	2	3	5	0
32. DF	5	0	5	0
33. DF	2	3	5	0
34. DF	5	0	5	0



35.	DF	2	3	5	0
36.	DF	4	0	5	0
TOTAL		123	54	152	25
		177		177	

5.1.5 Espírito Santo

O Estado do Espírito Santo coletou e analisou 140 unidades amostrais, atingindo 78% da meta estipulada para cada estado (180). Os resultados estão apresentados nas Tabelas 9 e 10. A presença de salmonela ocorreu em 0% das análises, ou seja, ausência de 100%. Em meio com vancomicina, foi constatada a presença de enterococos em 134 das 140 amostras (95,71%), sendo de 100% a positividade de enterococos em meio sem vancomicina. Em relação à rotulagem, 18 laudos (64,29%) estavam em conformidade com a legislação de referência, 9 foram consideradas insatisfatórias (32,14%), e 1 (3,57%) teve resultado indefinido.

Tabela 9: ESTADO: ESPÍRITO SANTO - VARIÁVEL AVALIADA - SALMONELLA

Lacen	Rotulagem	UF origem	Salmonella	Salmonella (presença)	Salmonella (ausência)	
1.	ES	indefinida	PR	AUSENTE	0	5
2.	ES	indefinida	PR	AUSENTE	0	5
3.	ES	indefinida	ES	AUSENTE	0	5
4.	ES	indefinida	ES	AUSENTE	0	5
5.	ES	indefinida	SC	AUSENTE	0	5
6.	ES	indefinida	ES	AUSENTE	0	5
7.	ES	indefinida	PR	AUSENTE	0	5
8.	ES	indefinida	PR	AUSENTE	0	5
9.	ES	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
10.	ES	insatisfatória	ES	AUSENTE	0	5
11.	ES	satisfatória	ES	AUSENTE	0	5
12.	ES	satisfatória	ES	AUSENTE	0	5
13.	ES	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
14.	ES	satisfatória	ES	AUSENTE	0	5
15.	ES	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
16.	ES	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
17.	ES	satisfatória	SC	AUSENTE	0	5
18.	ES	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
19.	ES	satisfatória	ES	AUSENTE	0	5
20.	ES	indefinida	ES	AUSENTE	0	5
21.	ES	satisfatória	SC	AUSENTE	0	5
22.	ES	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
23.	ES	satisfatória	ES	AUSENTE	0	5
24.	ES	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
25.	ES	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
26.	ES	satisfatória	ES	AUSENTE	0	5
27.	ES	satisfatória	ES	AUSENTE	0	5
28.	ES	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
TOTAL				0	140	
				140		



Rotulagem		
Conclusão do Laudo	Nº	%
Satisfatória	18	64,29
Insatisfatória	9	32,14
Indefinida	1	3,57
Total	28	100

Tabela 10: ESTADO: ESPÍRITO SANTO - VARIÁVEL AVALIADA - ENTEROCOCCUS

Lacen	Enterococcus com vancomicina (presença)	Enterococcus com vancomicina (ausência)	Enterococcus sem vancomicina (presença)	Enterococcus sem vancomicina (ausência)
1. ES	5	0	5	0
2. ES	5	0	5	0
3. ES	5	0	5	0
4. ES	5	0	5	0
5. ES	5	0	5	0
6. ES	5	0	5	0
7. ES	5	0	5	0
8. ES	5	0	5	0
9. ES	5	0	5	0
10. ES	5	0	5	0
11. ES	5	0	5	0
12. ES	5	0	5	0
13. ES	5	0	5	0
14. ES	5	0	5	0
15. ES	5	0	5	0
16. ES	5	0	5	0
17. ES	0	5	5	0
18. ES	5	0	5	0
19. ES	5	0	5	0
20. ES	5	0	5	0
21. ES	5	0	5	0
22. ES	5	0	5	0
23. ES	5	0	5	0
24. ES	5	0	5	0
25. ES	4	1	5	0
26. ES	5	0	5	0
27. ES	5	0	5	0
28. ES	5	0	5	0
TOTAL	134	6	140	0
	140		140	



5.1.6 Goiás

O Estado de Goiás coletou e analisou 190 unidades amostrais, correspondendo a 38 laudos emitidos pelo LACEN-GO. Houve ausência de salmonela em 100% das análises. Em relação à rotulagem, os laudos foram satisfatórios em 86,84% dos rótulos analisados, e insatisfatórios em 13,16%. Em presença de vancomicina, detectou-se a presença de enterococos em 29 amostras das 190 avaliadas (15,26%). Em meio sem vancomicina, detectou-se a presença em 189 amostras (99,47%). Os resultados estão apresentados nas Tabelas 11 e 12.

Tabela 11: ESTADO: GOIÁS - VARIÁVEL AVALIADA - SALMONELLA

Lacen	Rotulagem	UF origem	Salmonella	Salmonella (presença)	Salmonella (ausência)
1.	GO	DF	AUSENTE	0	5
2.	GO	MG	AUSENTE	0	5
3.	GO	MG	AUSENTE	0	5
4.	GO	DF	AUSENTE	0	5
5.	GO	GO	AUSENTE	0	5
6.	GO	GO	AUSENTE	0	5
7.	GO	MG	AUSENTE	0	5
8.	GO	SC	AUSENTE	0	5
9.	GO	GO	AUSENTE	0	5
10.	GO	MG	AUSENTE	0	5
11.	GO	GO	AUSENTE	0	5
12.	GO	DF	AUSENTE	0	5
13.	GO	GO	AUSENTE	0	5
14.	GO	MG	AUSENTE	0	5
15.	GO	DF	AUSENTE	0	5
16.	GO	PR	AUSENTE	0	5
17.	GO	PR	AUSENTE	0	5
18.	GO	SP	AUSENTE	0	5
19.	GO	SP	AUSENTE	0	5
20.	GO	PR	AUSENTE	0	5
21.	GO	PR	AUSENTE	0	5
22.	GO	MG	AUSENTE	0	5
23.	GO	GO	AUSENTE	0	5
24.	GO	GO	AUSENTE	0	5
25.	GO	MG	AUSENTE	0	5
26.	GO	DF	AUSENTE	0	5
27.	GO	SP	AUSENTE	0	5
28.	GO	PR	AUSENTE	0	5
29.	GO	PR	AUSENTE	0	5
30.	GO	MG	AUSENTE	0	5
31.	GO	DF	AUSENTE	0	5
32.	GO	PR	AUSENTE	0	5
33.	GO	MG	AUSENTE	0	5
34.	GO	DF	AUSENTE	0	5
35.	GO	PR	AUSENTE	0	5
36.	GO	GO	AUSENTE	0	5
37.	GO	SP	AUSENTE	0	5
38.	GO	DF	AUSENTE	0	5
TOTAL				0	190
				190	



Rotulagem		
Conclusão do Laudo	Nº	%
Satisfatória	33	86,84
Insatisfatória	5	13,16
Indefinida	0	0
Total	38	100

Tabela 12: ESTADO: GOIÁS - VARIÁVEL AVALIADA - ENTEROCOCCUS

Lacen	Enterococcus com vancomicina (presença)	Enterococcus com vancomicina (ausência)	Enterococcus sem vancomicina (presença)	Enterococcus sem vancomicina (ausência)
1. GO	0	5	5	0
2. GO	0	5	5	0
3. GO	0	5	5	0
4. GO	0	5	5	0
5. GO	0	5	5	0
6. GO	0	5	5	0
7. GO	0	5	5	0
8. GO	0	5	5	0
9. GO	0	5	5	0
10. GO	0	5	5	0
11. GO	0	5	5	0
12. GO	0	5	5	0
13. GO	0	5	5	0
14. GO	0	5	5	0
15. GO	0	5	5	0
16. GO	0	5	4	1
17. GO	0	5	5	0
18. GO	0	5	5	0
19. GO	0	5	5	0
20. GO	0	5	5	0
21. GO	0	5	5	0
22. GO	0	5	5	0
23. GO	0	5	5	0
24. GO	4	1	5	0
25. GO	2	3	5	0
26. GO	4	1	5	0
27. GO	5	0	5	0
28. GO	0	5	5	0
29. GO	1	4	5	0
30. GO	5	0	5	0
31. GO	0	5	5	0
32. GO	0	5	5	0
33. GO	2	3	5	0
34. GO	1	4	5	0
35. GO	0	5	5	0
36. GO	0	5	5	0
37. GO	2	3	5	0
38. GO	3	2	5	0
TOTAL	29	161	189	1
	190		190	



5.1.7 Mato Grosso do Sul

O Estado do Mato Grosso do Sul também colheu e analisou 190 unidades amostrais, das 180 previstas na meta do programa para cada estado. Os dados de salmonela indicam que apenas cinco das 190 amostras apresentaram sua presença (2,63%). Em relação à rotulagem, todos os rótulos foram considerados satisfatórios (100% de conformidade). Nas análises de enterococos, em meio com vancomicina, 136 amostras apresentaram a presença (71,58%). Em meio sem vancomicina, todas as amostras apresentaram enterococos (100%). Os dados estão apresentados nas Tabelas 13 e 14.

Tabela 13: ESTADO: MATO GROSSO DO SUL - VARIÁVEL AVALIADA - SALMONELLA

Lacen	Rotulagem	UF origem	Salmonella	Salmonella (presença)	Salmonella (ausência)	
1.	MS	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
2.	MS	satisfatória	MT	AUSENTE	0	5
3.	MS	satisfatória	RS	AUSENTE	0	5
4.	MS	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
5.	MS	satisfatória	MS	AUSENTE	0	5
6.	MS	satisfatória	MT	AUSENTE	0	5
7.	MS	satisfatória	MT	AUSENTE	0	5
8.	MS	satisfatória	MT	AUSENTE	0	5
9.	MS	satisfatória	MS	AUSENTE	0	5
10.	MS	satisfatória	MT	AUSENTE	0	5
11.	MS	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
12.	MS	satisfatória	MS	AUSENTE	0	5
13.	MS	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
14.	MS	satisfatória	MS	PRESENTE	1	4
15.	MS	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
16.	MS	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
17.	MS	satisfatória	MS	AUSENTE	0	5
18.	MS	satisfatória	MS	AUSENTE	0	5
19.	MS	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
20.	MS	satisfatória	MS	PRESENTE	1	4
21.	MS	satisfatória	MS	AUSENTE	0	5
22.	MS	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
23.	MS	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
24.	MS	satisfatória	RS	PRESENTE	1	4
25.	MS	satisfatória	MT	AUSENTE	0	5
26.	MS	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
27.	MS	satisfatória	RS	AUSENTE	0	5
28.	MS	satisfatória	MS	AUSENTE	0	5
29.	MS	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
30.	MS	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
31.	MS	satisfatória	MS	AUSENTE	0	5
32.	MS	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
33.	MS	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
34.	MS	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
35.	MS	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
36.	MS	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
37.	MS	satisfatória	MS	AUSENTE	0	5
38.	MS	satisfatória	SP	PRESENTE	2	3
TOTAL				5	185	
				190		



Rotulagem		
Conclusão do Laudo	Nº	%
Satisfatória	38	100
Insatisfatória	0	0
Indefinida	0	0
Total	38	100

Tabela 14: ESTADO: MATO GROSSO DO SUL - VARIÁVEL AVALIADA - ENTEROCOCCUS

Lacen	Enterococcus com vancomicina (presença)	Enterococcus com vancomicina (ausência)	Enterococcus sem vancomicina (presença)	Enterococcus sem vancomicina (ausência)
1. MS	2	3	5	0
2. MS	0	5	5	0
3. MS	0	5	5	0
4. MS	3	2	5	0
5. MS	5	0	5	0
6. MS	2	3	5	0
7. MS	5	0	5	0
8. MS	4	1	5	0
9. MS	3	2	5	0
10. MS	0	5	5	0
11. MS	2	3	5	0
12. MS	5	0	5	0
13. MS	4	1	5	0
14. MS	4	1	5	0
15. MS	4	1	5	0
16. MS	1	4	5	0
17. MS	3	2	5	0
18. MS	5	0	5	0
19. MS	5	0	5	0
20. MS	5	0	5	0
21. MS	5	0	5	0
22. MS	4	1	5	0
23. MS	4	1	5	0
24. MS	5	0	5	0
25. MS	4	1	5	0
26. MS	5	0	5	0
27. MS	5	0	5	0
28. MS	4	1	5	0
29. MS	2	3	5	0
30. MS	5	0	5	0
31. MS	4	1	5	0
32. MS	5	0	5	0
33. MS	5	0	5	0
34. MS	5	0	5	0
35. MS	0	5	5	0
36. MS	4	1	5	0



37.	MS	4	1	5	0
38.	MS	4	1	5	0
TOTAL		136	54	190	0
		190		190	

5.1.8 Minas Gerais

Os dados de salmonela obtidos por Minas Gerais indicam que em apenas 3 das 180 amostras analisadas detectou-se sua presença (1,67%). A rotulagem foi considerada satisfatória em 26 laudos (72,22%), insatisfatória em 9 (25%) e indefinida em 1 (2,78%), possivelmente por dificuldades na leitura e/ou rompimento na integridade das embalagens (o fato gerador não foi reportado). Em meio com vancomicina, a presença de enterococos foi detectada em 140 das 180 amostras (77,78%). Em meio sem vancomicina, a presença de enterococos foi detectada em 178 amostras (98,89%). Os dados estão apresentados nas Tabelas 15 e 16.

Tabela 15: ESTADO: MINAS GERAIS - VARIÁVEL AVALIADA - SALMONELLA

Lacen	Rotulagem	UF origem	Salmonella	Salmonella (presença)	Salmonella (ausência)	
1.	MG	insatisfatória	MG	PRESENTE	1	4
2.	MG	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
3.	MG	satisfatória	RS	AUSENTE	0	5
4.	MG	indefinida	PR	AUSENTE	0	5
5.	MG	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
6.	MG	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
7.	MG	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
8.	MG	satisfatória	MG	AUSENTE	0	5
9.	MG	satisfatória	MG	AUSENTE	0	5
10.	MG	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
11.	MG	satisfatória	MG	AUSENTE	0	5
12.	MG	insatisfatória	MG	AUSENTE	0	5
13.	MG	satisfatória	MG	AUSENTE	0	5
14.	MG	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
15.	MG	insatisfatória	MG	AUSENTE	0	5
16.	MG	satisfatória	RS	AUSENTE	0	5
17.	MG	insatisfatória	MG	AUSENTE	0	5
18.	MG	insatisfatória	MG	AUSENTE	0	5
19.	MG	satisfatória	MG	AUSENTE	0	5
20.	MG	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
21.	MG	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
22.	MG	satisfatória	MG	AUSENTE	0	5
23.	MG	satisfatória	MG	AUSENTE	0	5
24.	MG	satisfatória	MG	AUSENTE	0	5
25.	MG	satisfatória	MG	AUSENTE	0	5
26.	MG	insatisfatória	MG	AUSENTE	0	5
27.	MG	satisfatória	MG	AUSENTE	0	5
28.	MG	satisfatória	MG	AUSENTE	0	5
29.	MG	satisfatória	MG	AUSENTE	0	5
30.	MG	insatisfatória	MG	AUSENTE	0	5
31.	MG	satisfatória	RS	AUSENTE	0	5
32.	MG	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
33.	MG	satisfatória	MG	AUSENTE	0	5



34.	MG	satisfatória	RS	AUSENTE	0	5
35.	MG	insatisfatória	MG	PRESENTE	2	3
36.	MG	insatisfatória	MG	AUSENTE	0	5
TOTAL					3	177
					180	

Rotulagem		
Conclusão do Laudo	Nº	%
Satisfatória	26	72,22
Insatisfatória	9	25,00
Indefinida	1	2,78
Total	36	100,00

Tabela 16: ESTADO: MINAS GERAIS - VARIÁVEL AVALIADA - ENTEROCOCCUS

Lacen	Enterococcus com vancomicina (presença)	Enterococcus com vancomicina (ausência)	Enterococcus sem vancomicina (presença)	Enterococcus sem vancomicina (ausência)
1. MG	0	5	5	0
2. MG	0	5	5	0
3. MG	0	5	5	0
4. MG	0	5	5	0
5. MG	0	5	5	0
6. MG	5	0	5	0
7. MG	4	1	5	0
8. MG	5	0	5	0
9. MG	5	0	5	0
10. MG	4	1	5	0
11. MG	5	0	5	0
12. MG	5	0	5	0
13. MG	5	0	5	0
14. MG	5	0	5	0
15. MG	5	0	5	0
16. MG	5	0	5	0
17. MG	5	0	5	0
18. MG	5	0	5	0
19. MG	2	3	3	2
20. MG	5	0	5	0
21. MG	5	0	5	0
22. MG	5	0	5	0
23. MG	5	0	5	0
24. MG	5	0	5	0
25. MG	5	0	5	0
26. MG	4	1	5	0
27. MG	5	0	5	0
28. MG	0	5	5	0
29. MG	5	0	5	0
30. MG	5	0	5	0
31. MG	5	0	5	0
32. MG	5	0	5	0



33.	MG	5	0	5	0
34.	MG	1	4	5	0
35.	MG	5	0	5	0
36.	MG	5	0	5	0
TOTAL		140	40	178	2
		180		180	

5.1.9 Paraná

Na avaliação de presença e ausência de salmonelas em carcaças congeladas de frango, os dados do Paraná indicam que sua presença foi detectada em apenas 2 das 180 amostras analisadas (1,11%). Na avaliação de conformidade dos rótulos, constatou-se a plena adequação à Resolução RDC nº 13/2001. No meio com vancomicina, observou-se a presença de enterococos em 26 das 180 amostras analisadas (14,44%). Em meio sem vancomicina, foi observada a presença de enterococos em 135 amostras (75%). Os dados estão apresentados nas Tabelas 17 e 18.

Tabela 17: ESTADO: PARANÁ - VARIÁVEL AVALIADA - SALMONELLA

Lacen	Rotulagem	UF origem	Salmonella	Salmonella (presença)	Salmonella (ausência)	
1.	PR	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
2.	PR	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
3.	PR	satisfatória	MG	AUSENTE	0	5
4.	PR	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
5.	PR	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
6.	PR	satisfatória	MG	AUSENTE	0	5
7.	PR	satisfatória	MG	AUSENTE	0	5
8.	PR	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
9.	PR	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
10.	PR	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
11.	PR	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
12.	PR	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
13.	PR	satisfatória	MG	AUSENTE	0	5
14.	PR	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
15.	PR	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
16.	PR	satisfatória	RS	AUSENTE	0	5
17.	PR	satisfatória	MG	AUSENTE	0	5
18.	PR	satisfatória	GO	AUSENTE	0	5
19.	PR	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
20.	PR	satisfatória	SC	AUSENTE	0	5
21.	PR	satisfatória	GO	PRESENTE	1	4
22.	PR	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
23.	PR	satisfatória	SP	PRESENTE	1	4
24.	PR	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
25.	PR	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
26.	PR	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
27.	PR	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
28.	PR	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
29.	PR	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
30.	PR	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
31.	PR	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
32.	PR	satisfatória	GO	AUSENTE	0	5



33.	PR	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
34.	PR	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
35.	PR	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
36.	PR	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
TOTAL					2	178
					180	

Rotulagem		
Conclusão do Laudo	Nº	%
Satisfatória	36	100
Insatisfatória	0	0
Indefinida	0	0
Total	36	100

Tabela 18: ESTADO: PARANÁ - VARIÁVEL AVALIADA - ENTEROCOCCUS

Lacen	Enterococcus com vancomicina (presença)	Enterococcus com vancomicina (ausência)	Enterococcus sem vancomicina (presença)	Enterococcus sem vancomicina (ausência)
1. PR	0	5	5	0
2. PR	0	5	2	3
3. PR	2	3	5	0
4. PR	0	5	0	5
5. PR	0	5	5	0
6. PR	0	5	4	1
7. PR	0	5	4	1
8. PR	0	5	0	5
9. PR	0	5	0	5
10. PR	0	5	2	3
11. PR	0	5	3	2
12. PR	0	5	2	3
13. PR	0	5	3	2
14. PR	0	5	2	3
15. PR	0	5	0	5
16. PR	3	2	3	2
17. PR	2	3	5	0
18. PR	5	0	5	0
19. PR	0	5	3	2
20. PR	0	5	4	1
21. PR	0	5	4	1
22. PR	0	5	5	0
23. PR	2	3	5	0
24. PR	0	5	5	0
25. PR	0	5	5	0
26. PR	1	4	5	0
27. PR	0	5	5	0
28. PR	0	5	5	0
29. PR	0	5	5	0
30. PR	1	4	5	0



31.	PR	0	5	5	0
32.	PR	5	0	5	0
33.	PR	0	5	5	0
34.	PR	1	4	4	1
35.	PR	2	3	5	0
36.	PR	2	3	5	0
TOTAL		26	154	135	45
		180		180	

5.1.10 Rio de Janeiro

O Rio de Janeiro contribuiu para o programa realizando a análise de 190 unidades amostrais, de 180 programadas. Na análise de salmonela, constatou-se a presença em apenas 3 amostras (1,58%). Em relação à rotulagem, 29 laudos apresentaram concordância com a legislação (76,32%), ao passo que 9 estavam em desacordo (23,68%). Em meio com vancomicina, foi observada a presença de enterococos em 126 amostras (66,32%). Em meio sem vancomicina, todas as amostras apresentaram positividade para enterococos (100%). Os dados estão apresentados nas Tabelas 19 e 20.

Tabela 19: ESTADO: RIO DE JANEIRO - VARIÁVEL AVALIADA - SALMONELLA

Lacen	Rotulagem	UF origem	Salmonella	Salmonella (presença)	Salmonella (ausência)	
1.	RJ	satisfatória	MT	AUSENTE	0	5
2.	RJ	satisfatória	RJ	AUSENTE	0	5
3.	RJ	satisfatória	RJ	PRESENTE	3	2
4.	RJ	satisfatória	MS	AUSENTE	0	5
5.	RJ	satisfatória	RJ	AUSENTE	0	5
6.	RJ	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
7.	RJ	satisfatória	RJ	AUSENTE	0	5
8.	RJ	insatisfatória	MG	AUSENTE	0	5
9.	RJ	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
10.	RJ	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
11.	RJ	satisfatória	MT	AUSENTE	0	5
12.	RJ	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
13.	RJ	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
14.	RJ	satisfatória	MG	AUSENTE	0	5
15.	RJ	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
16.	RJ	satisfatória	RJ	AUSENTE	0	5
17.	RJ	satisfatória	MG	AUSENTE	0	5
18.	RJ	satisfatória	MT	AUSENTE	0	5
19.	RJ	satisfatória	RJ	AUSENTE	0	5
20.	RJ	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
21.	RJ	satisfatória	MG	AUSENTE	0	5
22.	RJ	satisfatória	MG	AUSENTE	0	5
23.	RJ	satisfatória	MG	AUSENTE	0	5
24.	RJ	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
25.	RJ	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
26.	RJ	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
27.	RJ	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
28.	RJ	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5



29.	RJ	satisfatória	RJ	AUSENTE	0	5
30.	RJ	insatisfatória	SP	AUSENTE	0	5
31.	RJ	insatisfatória	PR	AUSENTE	0	5
32.	RJ	insatisfatória	SP	PRESENTE	0	5
33.	RJ	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
34.	RJ	insatisfatória	SP	AUSENTE	0	5
35.	RJ	insatisfatória	DF	AUSENTE	0	5
36.	RJ	insatisfatória	MG	AUSENTE	0	5
37.	RJ	insatisfatória	PR	AUSENTE	0	5
38.	RJ	insatisfatória	PR	AUSENTE	0	5
TOTAL					3	187
						190

Rotulagem		
Conclusão do Laudo	Nº	%
Satisfatória	39	76,32
Insatisfatória	9	23,68
Indefinida	0	0,00
Total	38	100,00

Tabela 20: ESTADO: RIO DE JANEIRO - VARIÁVEL AVALIADA - ENTEROCOCCUS

Lacen	Enterococcus com vancomicina (presença)	Enterococcus com vancomicina (ausência)	Enterococcus sem vancomicina (presença)	Enterococcus sem vancomicina (ausência)
1. RJ	5	0	5	0
2. RJ	5	0	5	0
3. RJ	5	0	5	0
4. RJ	5	0	5	0
5. RJ	5	0	5	0
6. RJ	2	3	5	0
7. RJ	5	0	5	0
8. RJ	5	0	5	0
9. RJ	5	0	5	0
10. RJ	0	5	5	0
11. RJ	5	0	5	0
12. RJ	3	2	5	0
13. RJ	0	5	5	0
14. RJ	3	2	5	0
15. RJ	1	4	5	0
16. RJ	5	0	5	0
17. RJ	0	5	5	0
18. RJ	2	3	5	0
19. RJ	5	0	5	0
20. RJ	4	1	5	0



21.	RJ	3	2	5	0
22.	RJ	5	0	5	0
23.	RJ	2	3	5	0
24.	RJ	2	3	5	0
25.	RJ	4	1	5	0
26.	RJ	2	3	5	0
27.	RJ	3	2	5	0
28.	RJ	5	0	5	0
29.	RJ	4	1	5	0
30.	RJ	1	4	5	0
31.	RJ	5	0	5	0
32.	RJ	4	1	5	0
33.	RJ	0	5	5	0
34.	RJ	5	0	5	0
35.	RJ	4	1	5	0
36.	RJ	5	0	5	0
37.	RJ	0	5	5	0
38.	RJ	2	3	5	0
TOTAL		126	64	190	0
		190		190	

5.1.11 Rio Grande do Norte

O Estado do Rio Grande do Norte colheu e analisou 180 unidades amostrais, sendo constatada a presença de salmonelas em duas delas (1,11%). Em relação à rotulagem, todos os laudos (100%) estavam adequados à Resolução RDC nº 13/2001. Quanto à enterococos, em meio com vancomicina, observou-se a presença em 124 amostras (68,89%). Em meio sem vancomicina, foi detectada a presença de enterococos em todas as amostras analisadas (100%). Os dados estão apresentados nas tabelas 21 e 22.

Tabela 21: ESTADO: RIO GRANDE DO NORTE - VARIÁVEL AVALIADA - SALMONELLA

Lacen	Rotulagem	UF origem	Salmonella	Salmonella (presença)	Salmonella (ausência)
1.	RN	RS	AUSENTE	0	5
2.	RN	SP	AUSENTE	0	5
3.	RN	BA	AUSENTE	0	5
4.	RN	RS	AUSENTE	0	5
5.	RN	BA	AUSENTE	0	5
6.	RN	BA	AUSENTE	0	5
7.	RN	RN	AUSENTE	0	5
8.	RN	RN	AUSENTE	0	5
9.	RN	BA	AUSENTE	0	5
10.	RN	RS	AUSENTE	0	5
11.	RN	PE	AUSENTE	0	5
12.	RN	PE	AUSENTE	0	5
13.	RN	BA	AUSENTE	0	5
14.	RN	RS	AUSENTE	0	5
15.	RN	PE	AUSENTE	0	5



16.	RN	satisfatória	RS	AUSENTE	0	5
17.	RN	satisfatória	RN	AUSENTE	0	5
18.	RN	satisfatória	SC	AUSENTE	0	5
19.	RN	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
20.	RN	satisfatória	RS	AUSENTE	0	5
21.	RN	satisfatória	RS	AUSENTE	0	5
22.	RN	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
23.	RN	satisfatória	MG	AUSENTE	0	5
24.	RN	satisfatória	PE	AUSENTE	0	5
25.	RN	satisfatória	RS	AUSENTE	0	5
26.	RN	satisfatória	PE	AUSENTE	0	5
27.	RN	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
28.	RN	satisfatória	BA	AUSENTE	0	5
29.	RN	satisfatória	RN	AUSENTE	0	5
30.	RN	satisfatória	RN	AUSENTE	0	5
31.	RN	satisfatória	PE	AUSENTE	0	5
32.	RN	satisfatória	MT	AUSENTE	0	5
33.	RN	satisfatória	PE	AUSENTE	0	5
34.	RN	satisfatória	MT	AUSENTE	0	5
35.	RN	satisfatória	RN	PRESENTE	2	3
36.	RN	satisfatória	BA	PRESENTE	2	3
TOTAL					4	176
					180	

Rotulagem		
Conclusão do Laudo	Nº	%
Satisfatória	36	100,00
Insatisfatória	0	0,00
Indefinida	0	0,00
Total	36	100,00

Tabela 22: ESTADO: RIO GRANDE DO NORTE - VARIÁVEL AVALIADA - ENTEROCOCCUS

Lacen	Enterococcus com vancomicina (presença)	Enterococcus com vancomicina (ausência)	Enterococcus sem vancomicina (presença)	Enterococcus sem vancomicina (ausência)
1. RN	5	0	5	0
2. RN	4	1	5	0
3. RN	1	4	5	0
4. RN	0	5	5	0
5. RN	1	4	5	0
6. RN	5	0	5	0
7. RN	5	0	5	0
8. RN	2	3	5	0
9. RN	2	3	5	0



10.	RN	4	1	5	0
11.	RN	5	0	5	0
12.	RN	4	1	5	0
13.	RN	5	0	5	0
14.	RN	4	1	5	0
15.	RN	5	0	5	0
16.	RN	3	2	5	0
17.	RN	5	0	5	0
18.	RN	2	3	5	0
19.	RN	4	1	5	0
20.	RN	5	0	5	0
21.	RN	1	4	5	0
22.	RN	3	2	5	0
23.	RN	3	2	5	0
24.	RN	3	2	5	0
25.	RN	0	5	5	0
26.	RN	0	5	5	0
27.	RN	5	0	5	0
28.	RN	1	4	5	0
29.	RN	5	0	5	0
30.	RN	5	0	5	0
31.	RN	5	0	5	0
32.	RN	2	3	5	0
33.	RN	5	0	5	0
34.	RN	5	0	5	0
35.	RN	5	0	5	0
36.	RN	5	0	5	0
TOTAL		124	56	180	0
		180		180	

5.1.12 Rio Grande do Sul

As amostras analisadas pelo Estado do Rio Grande do Sul apresentaram ausência de salmonela em 172 de 180 (95,56%). A rotulagem foi satisfatória em 27 laudos (75%), insatisfatória em 1 (2,78%) e indefinida em 8 (22,22%). Em relação à enterococos, em meio com vancomicina, detectou-se a presença em 165 amostras (91,67%). Em meio sem vancomicina, constatou-se que todas as amostras apresentaram enterococos (100% de positividade). Os dados estão apresentados nas Tabelas 23 e 24.

Tabela 23: ESTADO: RIO GRANDE DO SUL - VARIÁVEL AVALIADA - SALMONELLA

Lacen	Rotulagem	UF origem	Salmonella	Salmonella (presença)	Salmonella (ausência)	
1.	RS	indefinida	RS	AUSENTE	0	5
2.	RS	indefinida	PR	AUSENTE	0	5
3.	RS	indefinida	MG	AUSENTE	0	5
4.	RS	indefinida	RS	AUSENTE	0	5
5.	RS	indefinida	PR	AUSENTE	0	5
6.	RS	indefinida	RS	AUSENTE	0	5



7.	RS	indefinida	RS	AUSENTE	0	5
8.	RS	indefinida	RS	AUSENTE	0	5
9.	RS	satisfatória	RS	AUSENTE	0	5
10.	RS	satisfatória	RS	PRESENTE	1	4
11.	RS	satisfatória	RS	AUSENTE	0	5
12.	RS	satisfatória	RS	AUSENTE	0	5
13.	RS	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
14.	RS	satisfatória	RS	PRESENTE	1	4
15.	RS	satisfatória	RS	AUSENTE	0	5
16.	RS	satisfatória	RS	AUSENTE	0	5
17.	RS	satisfatória	RS	AUSENTE	0	5
18.	RS	satisfatória	RS	AUSENTE	2	3
19.	RS	satisfatória	PR	PRESENTE	1	4
20.	RS	satisfatória	RS	AUSENTE	0	5
21.	RS	satisfatória	RS	AUSENTE	0	5
22.	RS	satisfatória	SP	PRESENTE	3	2
23.	RS	satisfatória	RS	AUSENTE	0	5
24.	RS	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
25.	RS	satisfatória	MG	AUSENTE	0	5
26.	RS	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
27.	RS	insatisfatória	RS	AUSENTE	0	5
28.	RS	satisfatória	RS	AUSENTE	0	5
29.	RS	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
30.	RS	satisfatória	RS	AUSENTE	0	5
31.	RS	satisfatória	SC	AUSENTE	0	5
32.	RS	satisfatória	RS	AUSENTE	0	5
33.	RS	satisfatória	MG	AUSENTE	0	5
34.	RS	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
35.	RS	satisfatória	RS	AUSENTE	0	5
36.	RS	satisfatória	MG	AUSENTE	0	5
TOTAL					8	172
					180	

Rotulagem		
Conclusão do Laudo	Nº	%
Satisfatória	27	75,00
Insatisfatória	1	2,78
Indefinida	8	22,22
Total	36	100,00



Tabela 24: ESTADO: RIO GRANDE DO SUL - VARIÁVEL AVALIADA - ENTEROCOCCUS

Lacen	Enterococcus com vancomicina (presença)	Enterococcus com vancomicina (ausência)	Enterococcus sem vancomicina (presença)	Enterococcus sem vancomicina (ausência)
1. RS	5	0	5	0
2. RS	5	0	5	0
3. RS	5	0	5	0
4. RS	5	0	5	0
5. RS	5	0	5	0
6. RS	5	0	5	0
7. RS	5	0	5	0
8. RS	5	0	5	0
9. RS	5	0	5	0
10. RS	5	0	5	0
11. RS	3	2	5	0
12. RS	5	0	5	0
13. RS	5	0	5	0
14. RS	0	5	5	0
15. RS	4	1	5	0
16. RS	5	0	5	0
17. RS	5	0	5	0
18. RS	5	0	5	0
19. RS	5	0	5	0
20. RS	5	0	5	0
21. RS	5	0	5	0
22. RS	5	0	5	0
23. RS	5	0	5	0
24. RS	5	0	5	0
25. RS	5	0	5	0
26. RS	5	0	5	0
27. RS	5	0	5	0
28. RS	5	0	5	0
29. RS	5	0	5	0
30. RS	3	2	5	0
31. RS	5	0	5	0
32. RS	0	5	5	0
33. RS	5	0	5	0
34. RS	5	0	5	0
35. RS	5	0	5	0
36. RS	5	0	5	0
TOTAL	165	15	180	0
	180		180	



5.1.13 Santa Catarina

O Estado de Santa Catarina foi o único participante do programa a analisar somente marcas de seu Estado. Os dados obtidos para salmonela indicam que sua presença foi detectada em 6 das 180 amostras analisadas (3,33%). A análise dos rótulos mostrou que 33 laudos se apresentaram adequados à legislação (91,67%), ao passo que 3 estavam em desacordo (8,33%). Na análise de presença e ausência de enterococos, em meio com vancomicina, detectou-se a presença em 69 amostras (38,33%). Em meio sem vancomicina, 169 amostras apresentaram presença de enterococos (93,89%). Os dados estão apresentados nas Tabelas 25 e 26

Tabela 25: ESTADO: SANTA CATARINA - VARIÁVEL AVALIADA - SALMONELLA

Lacen	Rotulagem	UF origem	Salmonella	Salmonella (presença)	Salmonella (ausência)	
1.	SC	satisfatória	SC	AUSENTE	0	5
2.	SC	satisfatória	SC	AUSENTE	0	5
3.	SC	satisfatória	SC	AUSENTE	0	5
4.	SC	satisfatória	SC	AUSENTE	0	5
5.	SC	satisfatória	SC	AUSENTE	0	5
6.	SC	satisfatória	SC	AUSENTE	0	5
7.	SC	insatisfatória	SC	AUSENTE	0	5
8.	SC	satisfatória	SC	AUSENTE	0	5
9.	SC	satisfatória	SC	AUSENTE	0	5
10.	SC	satisfatória	SC	AUSENTE	0	5
11.	SC	satisfatória	SC	AUSENTE	0	5
12.	SC	satisfatória	SC	AUSENTE	0	5
13.	SC	satisfatória	SC	AUSENTE	0	5
14.	SC	satisfatória	SC	AUSENTE	0	5
15.	SC	satisfatória	SC	AUSENTE	0	5
16.	SC	satisfatória	SC	AUSENTE	0	5
17.	SC	insatisfatória	SC	AUSENTE	0	5
18.	SC	satisfatória	SC	AUSENTE	0	5
19.	SC	satisfatória	SC	AUSENTE	0	5
20.	SC	insatisfatória	SC	AUSENTE	0	5
21.	SC	satisfatória	SC	AUSENTE	0	5
22.	SC	satisfatória	SC	PRESENTE	1	4
23.	SC	satisfatória	SC	PRESENTE	5	0
24.	SC	satisfatória	SC	AUSENTE	0	5
25.	SC	satisfatória	SC	AUSENTE	0	5
26.	SC	satisfatória	SC	AUSENTE	0	5
27.	SC	satisfatória	SC	AUSENTE	0	5
28.	SC	satisfatória	SC	AUSENTE	0	5
29.	SC	satisfatória	SC	AUSENTE	0	5
30.	SC	satisfatória	SC	AUSENTE	0	5
31.	SC	satisfatória	SC	AUSENTE	0	5
32.	SC	satisfatória	SC	AUSENTE	0	5
33.	SC	satisfatória	SC	AUSENTE	0	5
34.	SC	satisfatória	SC	AUSENTE	0	5



35.	SC	satisfatória	SC	AUSENTE	0	5
36.	SC	satisfatória	SC	AUSENTE	0	5
TOTAL					6	174
						180

Rotulagem		
Conclusão do Laudo	Nº	%
Satisfatória	33	
Insatisfatória	3	
Indefinida	0	
Total	36	

Tabela 26: ESTADO: SANTA CATARINA - VARIÁVEL AVALIADA - ENTEROCOCCUS

Lacen	Enterococcus com vancomicina (presença)	Enterococcus com vancomicina (ausência)	Enterococcus sem vancomicina (presença)	Enterococcus sem vancomicina (ausência)
1. SC	0	5	5	0
2. SC	0	5	5	0
3. SC	0	5	5	0
4. SC	0	5	5	0
5. SC	0	5	5	0
6. SC	3	2	5	0
7. SC	1	4	5	0
8. SC	0	5	5	0
9. SC	0	5	5	0
10. SC	0	5	3	2
11. SC	5	0	5	0
12. SC	2	3	4	1
13. SC	4	1	5	0
14. SC	5	0	3	2
15. SC	4	1	5	0
16. SC	5	0	5	0
17. SC	4	1	2	3
18. SC	0	5	5	0
19. SC	0	5	5	0
20. SC	0	5	5	0
21. SC	5	0	5	0
22. SC	3	2	5	0
23. SC	0	5	5	0
24. SC	5	0	5	0
25. SC	0	5	5	0
26. SC	2	3	5	0
27. SC	2	3	5	0
28. SC	4	1	5	0
29. SC	1	4	5	0
30. SC	5	0	5	0



31.	SC	0	5	5	0
32.	SC	4	1	5	0
33.	SC	0	5	5	0
34.	SC	5	0	5	0
35.	SC	0	5	3	2
36.	SC	0	5	4	1
TOTAL		69	111	169	11
		180		180	

5.1.14 São Paulo - Capital

Em São Paulo, Capital, foram colhidas e analisadas 180 unidades amostrais, das quais foi constatada presença de salmonela em 16 delas (8,89%). A rotulagem foi considerada satisfatória em 100% dos rótulos analisados. Em meio com vancomicina, a presença de enterococos foi constatada em 161 amostras analisadas (89,44%). Em meios sem vancomicina, todas as 180 amostras apresentaram presença de enterococos (100%). Os resultados estão apresentados nas Tabelas 27 e 28.

Tabela 27: ESTADO: SÃO PAULO (CAPITAL) - VARIÁVEL AVALIADA - SALMONELLA

Lacen	Rotulagem	UF origem	Salmonella	Salmonella (presença)	Salmonella (ausência)
1.	SP	MT	AUSENTE	0	5
2.	SP	RS	AUSENTE	0	5
3.	SP	RS	AUSENTE	0	5
4.	SP	MT	AUSENTE	0	5
5.	SP	PR	AUSENTE	0	5
6.	SP	SP	AUSENTE	0	5
7.	SP	PR	AUSENTE	0	5
8.	SP	SP	AUSENTE	0	5
9.	SP	PR	AUSENTE	0	5
10.	SP	PR	AUSENTE	0	5
11.	SP	MG	AUSENTE	0	5
12.	SP	PR	AUSENTE	0	5
13.	SP	PR	AUSENTE	0	5
14.	SP	PR	AUSENTE	0	5
15.	SP	MG	AUSENTE	0	5
16.	SP	SP	PRESENTE	2	3
17.	SP	SP	AUSENTE	0	5
18.	SP	SP	AUSENTE	0	5
19.	SP	SP	PRESENTE	1	4
20.	SP	SP	AUSENTE	0	5
21.	SP	MG	AUSENTE	0	5
22.	SP	SP	AUSENTE	0	5
23.	SP	PR	AUSENTE	0	5
24.	SP	SP	AUSENTE	5	0
25.	SP	RS	PRESENTE	2	3
26.	SP	PR	AUSENTE	0	5
27.	SP	SP	AUSENTE	0	5
28.	SP	SP	PRESENTE	5	0



29.	SP	satisfatória	SC	AUSENTE	0	5
30.	SP	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
31.	SP	satisfatória	RS	AUSENTE	0	5
32.	SP	satisfatória	RS	AUSENTE	0	5
33.	SP	satisfatória	MT	AUSENTE	0	5
34.	SP	satisfatória	GO	AUSENTE	0	5
35.	SP	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
36.	SP	satisfatória	SP	PRESENTE	1	4
TOTAL					16	164
						180

Rotulagem		
Conclusão do Laudo	Nº	%
Satisfatória	36	100
Insatisfatória	0	0
Indefinida	0	0
Total	36	100

Tabela 28: ESTADO: SÃO PAULO (CAPITAL) - VARIÁVEL AVALIADA - ENTEROCOCCUS

Lacen	Enterococcus com vancomicina (presença)	Enterococcus com vancomicina (ausência)	Enterococcus sem vancomicina (presença)	Enterococcus sem vancomicina (ausência)
1. SP	5	0	5	0
2. SP	5	0	5	0
3. SP	5	0	5	0
4. SP	4	1	5	0
5. SP	5	0	5	0
6. SP	5	0	5	0
7. SP	4	1	5	0
8. SP	5	0	5	0
9. SP	1	4	5	0
10. SP	4	1	5	0
11. SP	4	1	5	0
12. SP	5	0	5	0
13. SP	1	4	5	0
14. SP	4	1	5	0
15. SP	4	1	5	0
16. SP	5	0	5	0
17. SP	5	0	5	0
18. SP	5	0	5	0
19. SP	5	0	5	0
20. SP	5	0	5	0



21.	SP	5	0	5	0
22.	SP	5	0	5	0
23.	SP	5	0	5	0
24.	SP	5	0	5	0
25.	SP	5	0	5	0
26.	SP	5	0	5	0
27.	SP	5	0	5	0
28.	SP	5	0	5	0
29.	SP	5	0	5	0
30.	SP	5	0	5	0
31.	SP	5	0	5	0
32.	SP	0	5	5	0
33.	SP	5	0	5	0
34.	SP	5	0	5	0
35.	SP	5	0	5	0
36.	SP	5	0	5	0
TOTAL		161	19	180	0
		180		180	

5.1.15 São Paulo – Ribeirão Preto

Do mesmo modo que na capital, em Ribeirão Preto foram colhidas e analisadas 180 unidades amostrais, cujos laudos constaram a presença de salmonela em 10 dessas amostras (5,56%). A análise da rotulagem foi satisfatória em 31 laudos (86,11%) e em 5 deles foi considerada insatisfatória (13,89%). Em meio com vancomicina, a presença de enterococos foi observada em 164 amostras (91,11%), enquanto em meio sem vancomicina, a presença de enterococos foi constatada em 178 amostras (98,89%). Os dados estão apresentados nas Tabelas 29 e 30.

Tabela 29: SÃO PAULO: RIBEIRÃO PRETO - VARIÁVEL AVALIADA - SALMONELLA

Lacen	Rotulagem	UF origem	Salmonella	Salmonella (presença)	Salmonella (ausência)	
1.	RP	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
2.	RP	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
3.	RP	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
4.	RP	satisfatória	SP	PRESENTE	2	3
5.	RP	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
6.	RP	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
7.	RP	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
8.	RP	satisfatória	MT	AUSENTE	0	5
9.	RP	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
10.	RP	satisfatória	MG	AUSENTO	0	5
11.	RP	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
12.	RP	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
13.	RP	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
14.	RP	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
15.	RP	satisfatória	RS	AUSENTE	0	5
16.	RP	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
17.	RP	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5



18.	RP	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
19.	RP	satisfatória	MG	AUSENTE	0	5
20.	RP	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
21.	RP	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
22.	RP	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
23.	RP	insatisfatória	SP	PRESENTE	1	4
24.	RP	satisfatória	SP	PRESENTE	5	0
25.	RP	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
26.	RP	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
27.	RP	satisfatória	PR	PRESENTE	2	3
28.	RP	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
29.	RP	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
30.	RP	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
31.	RP	insatisfatória	SP	AUSENTE	0	5
32.	RP	insatisfatória	DF	AUSENTE	0	5
33.	RP	insatisfatória	DF	AUSENTE	0	5
34.	RP	insatisfatória	SP	AUSENTE	0	5
35.	RP	satisfatória	PR	AUSENTE	0	5
36.	RP	satisfatória	SP	AUSENTE	0	5
TOTAL					10	170
					180	

Rotulagem		
Conclusão do Laudo	Nº	%
Satisfatória	31	86,11
Insatisfatória	5	13,89
Indefinida	0	0,00
Total	36	100,00

Tabela 30: SÃO PAULO: RIBEIRÃO PRETO - VARIÁVEL AVALIADA - ENTEROCOCCUS

Lacen	Enterococcus com vancomicina (presença)	Enterococcus com vancomicina (ausência)	Enterococcus sem vancomicina (presença)	Enterococcus sem vancomicina (ausência)
1. RP	4	1	3	2
2. RP	4	1	5	0
3. RP	5	0	5	0
4. RP	5	0	5	0
5. RP	5	0	5	0
6. RP	5	0	5	0
7. RP	5	0	5	0
8. RP	3	2	5	0
9. RP	5	0	5	0
10. RP	4	1	5	0
11. RP	5	0	5	0



12.	RP	5	0	5	0
13.	RP	5	0	5	0
14.	RP	5	0	5	0
15.	RP	5	0	5	0
16.	RP	5	0	5	0
17.	RP	5	0	5	0
18.	RP	4	1	5	0
19.	RP	0	5	5	0
20.	RP	5	0	5	0
21.	RP	4	1	5	0
22.	RP	5	0	5	0
23.	RP	5	0	5	0
24.	RP	5	0	5	0
25.	RP	5	0	5	0
26.	RP	5	0	5	0
27.	RP	3	2	5	0
28.	RP	5	0	5	0
29.	RP	5	0	5	0
30.	RP	5	0	5	0
31.	RP	5	0	5	0
32.	RP	3	2	5	0
33.	RP	5	0	5	0
34.	RP	5	0	5	0
35.	RP	5	0	5	0
36.	RP	5	0	5	0
TOTAL		164	16	178	2
		180		180	

5.2. RESULTADO CONSOLIDADO DOS ESTADOS (VISA e LACEN)

A meta global de colheita e análise de carcaças congeladas de frango, segundo as metodologias definidas no Manual de Procedimentos do PREBAF, foi plenamente alcançada, cujos dados correspondentes são apresentados nas tabelas e figuras que se seguem.

Tabela 31: Número de laudos e de unidades amostrais colhidas e analisadas

ESTADO	Nº DE LAUDOS	N DE UNIDADES AMOSTRAIS (*)
Alagoas	36	180
Amapá	40	200
Ceará	36	180
Distrito Federal	36	180
Espírito Santo	28	140
Goiás	38	190
Mato Grosso do Sul	38	190
Minas Gerais	36	180
Paraná	36	180
Rio de Janeiro	38	190



Rio Grande do Norte	36	180
Rio Grande do Sul	36	180
Santa Catarina	36	180
São Paulo - Capital	36	180
São Paulo - Ribeirão Preto	36	180
TOTAL	542	2710

(*) Cada laudo corresponde a 5 unidades amostrais.

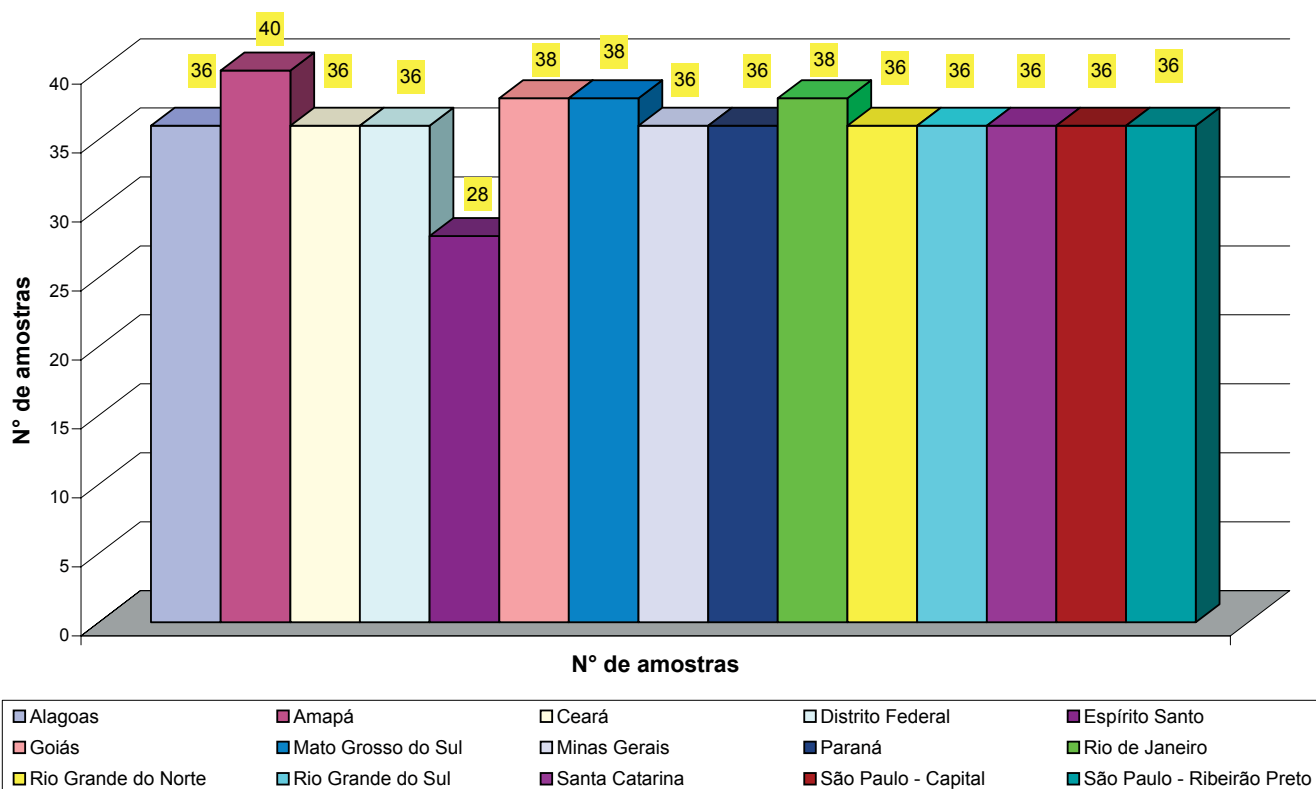


Figura 1: Nº laudos enviados pelas Visa's para a Anvisa – PREBAF

Tabela 32: Número de marcas de frango produzidas no estado e avaliadas - PRE-BAF

ESTADO	Marcas produzidas no próprio estado
Alagoas	2
Amapá	1
Ceará	2
Distrito Federal	4
Espírito Santo	5
Goiás	3
Mato Grosso do Sul	3
Minas Gerais	19
Paraná	8
Rio de Janeiro	1
Rio Grande do Norte	1



Rio Grande do Sul	22
Santa Catarina	15
São Paulo - Capital	12
São Paulo - Ribeirão Preto	14

Marcas produzidas no próprio Estado

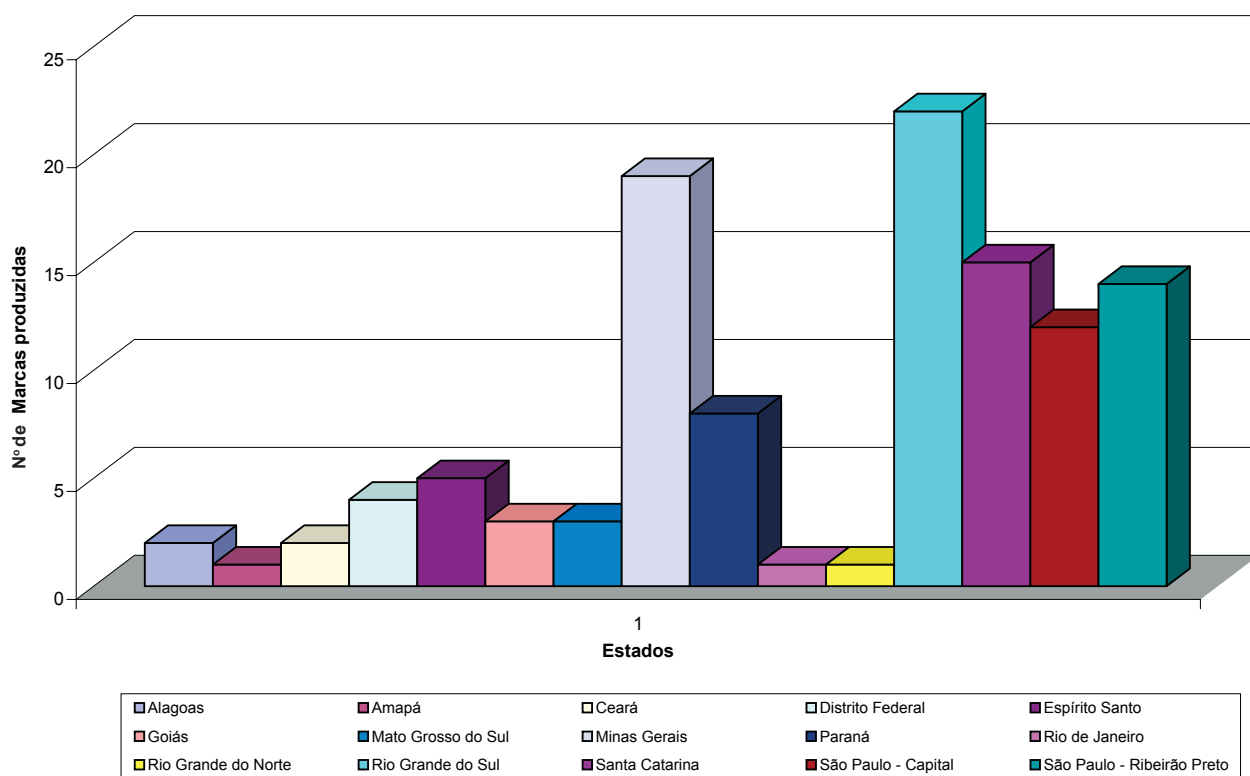


Figura 2: Número de marcas produzidas no estado e avaliadas - PREBAF

Tabela 33: Número de marcas comercializadas nos Estados e avaliadas - PREBAF

ESTADO	Marcas comercializadas no Estado
Alagoas	12
Amapá	19
Ceará	13
Distrito Federal	9
Espírito Santo	12
Goiás	10
Mato Grosso do Sul	7
Minas Gerais	20
Paraná	17
Rio de Janeiro	9
Rio Grande do Norte	13
Rio Grande do Sul	21



Santa Catarina	16
São Paulo - Capital	11
São Paulo - Ribeirão Preto	17

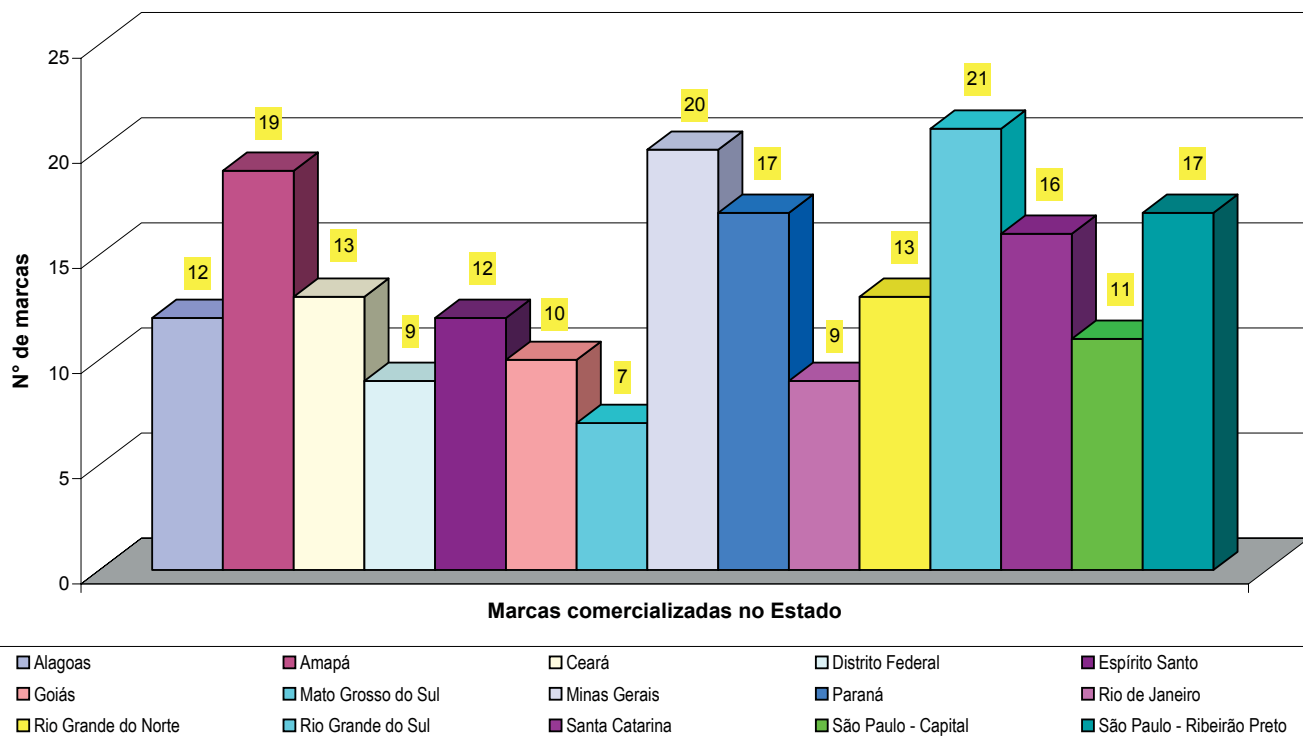


Figura 3: Número de marcas comercializadas nos Estados e avaliadas

Tabela 34: Análise dos dizeres de rotulagem dos laudos encaminhados pelas Visa's à Anvisa - PREBAF

ESTADO	SATISFATÓRIA	INSATISFATÓRIA	INDEFINIDA	TOTAL
Alagoas	28	3	5	36
Amapá	40	0	0	40
Ceará	28	8	0	36
Distrito Federal	36	0	0	36
Espírito Santo	18	9	1	28
Goiás	33	5	0	38
Mato Grosso do Sul	38	0	0	38
Minas Gerais	26	9	1	36
Paraná	36	0	0	36
Rio de Janeiro	29	9	0	38
Rio Grande do Norte	36	0	0	36
Rio Grande do Sul	27	1	8	36
Santa Catarina	33	3	0	36
São Paulo - Capital	36	0	0	36
São Paulo - Ribeirão Preto	31	5	0	36
TOTAL	475	52	15	542
%	87,6	9,6	2,8	100



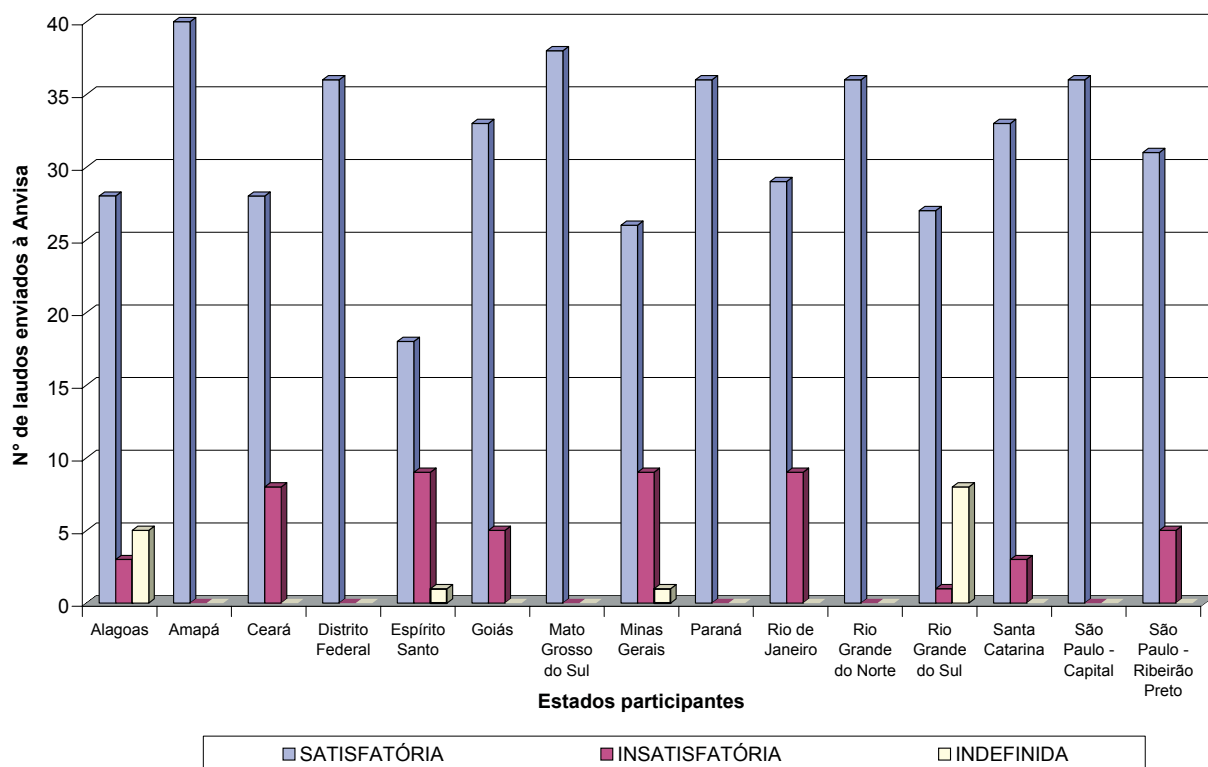


Figura 4: Análise dos dizeres de rotulagem de acordo com a RDC nº 13/2001

Tabela 35: Resultados de notificações sobre rotulagem - PREBAF (2004-2005-2006)

UF	Nº notificações	Adequaram as irregularidades	Não adequaram
AL	1	0	1
CE	2	2	0
DF	2	2	0
ES	1	0	1
GO	5	2	3
MG	11	3	8
MS	1	1	0
PE	2	2	0
PR	7	5	2
RS	3	3	0
SC	3	2	1
SP	6	4	2
Total	44	26	18



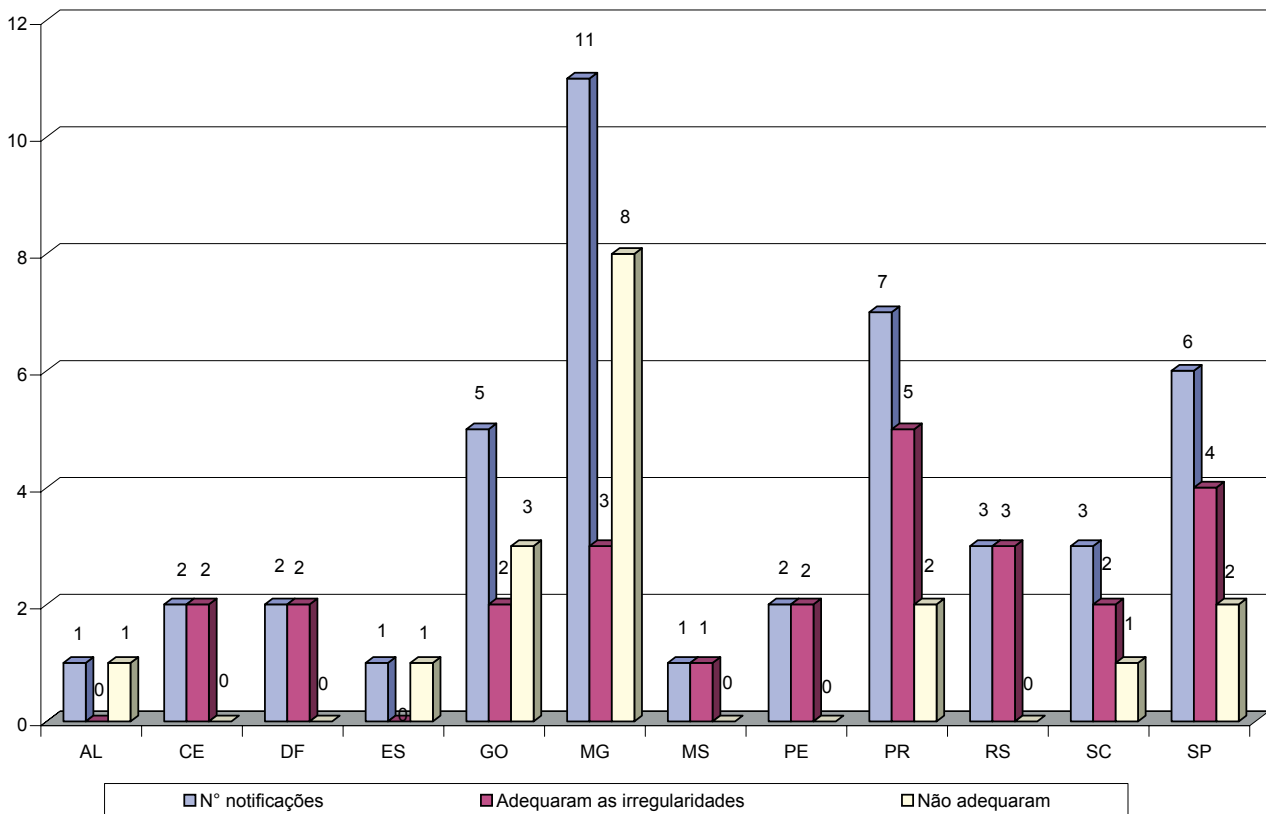


Figura 5: Resultados de notificações sobre rotulagem - PREBAF

A emissão de notificações origina-se da coleta de dados de programas nacionais coordenados pela Anvisa, como o PREBAF, e do recebimento de denúncias de usuários, de entidades de defesa do consumidor, do setor produtivo, de órgãos de saúde, dentre outros. Definiu-se nesse programa que a GICRA/ANVISA seria responsável por emitir as notificações às empresas produtoras de frango, sempre que na análise de rótulos fosse constatada inconformidade com a RDC nº 13/2001.

Do total de rótulos avaliados no PREBAF até 2006, somando 542, verificou-se um aumento no percentual de adequação à legislação de referência (87,6%), dado que até 2005 a conformidade dos rótulos atingiu em média 81,8%. Um total de 44 notificações foram enviadas às empresas, solicitando a adequação dos respectivos rótulos, das quais 26 (59%) atenderam às disposições estabelecidas. Os laudos com os resultados insatisfatórios das 18 empresas (41%) que não responderam às notificações da ANVISA e/ou da VISA estadual, foram encaminhados ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA para providências cabíveis junto aos estabelecimentos produtores sob inspeção daquele Ministério. Contudo, até o fechamento deste relatório o MAPA não havia se manifestado quanto ao ocorrido.



Tabela 36: Presença e ausência de Enterococos em meios com vancomicina nas amostras coletadas

ESTADO	ENTEROCOCOS COM VANCOMICINA - PRESENÇA	ENTEROCOCOS COM VANCOMICINA - AUSÊNCIA
Alagoas	109	71
Amapá	117	83
Ceará	71	109
Distrito Federal*	122	54
Espírito Santo	134	6
Goiás	29	161
Mato Grosso do Sul	136	54
Minas Gerais	140	40
Paraná	26	154
Rio de Janeiro	126	64
Rio Grande do Norte	124	56
Rio Grande do Sul	165	15
Santa Catarina	69	111
São Paulo - Capital	161	19
São Paulo - Ribeirão Preto	164	16
TOTAL	1693	1013
	2706	

* DF analisou 177 das 180 amostras

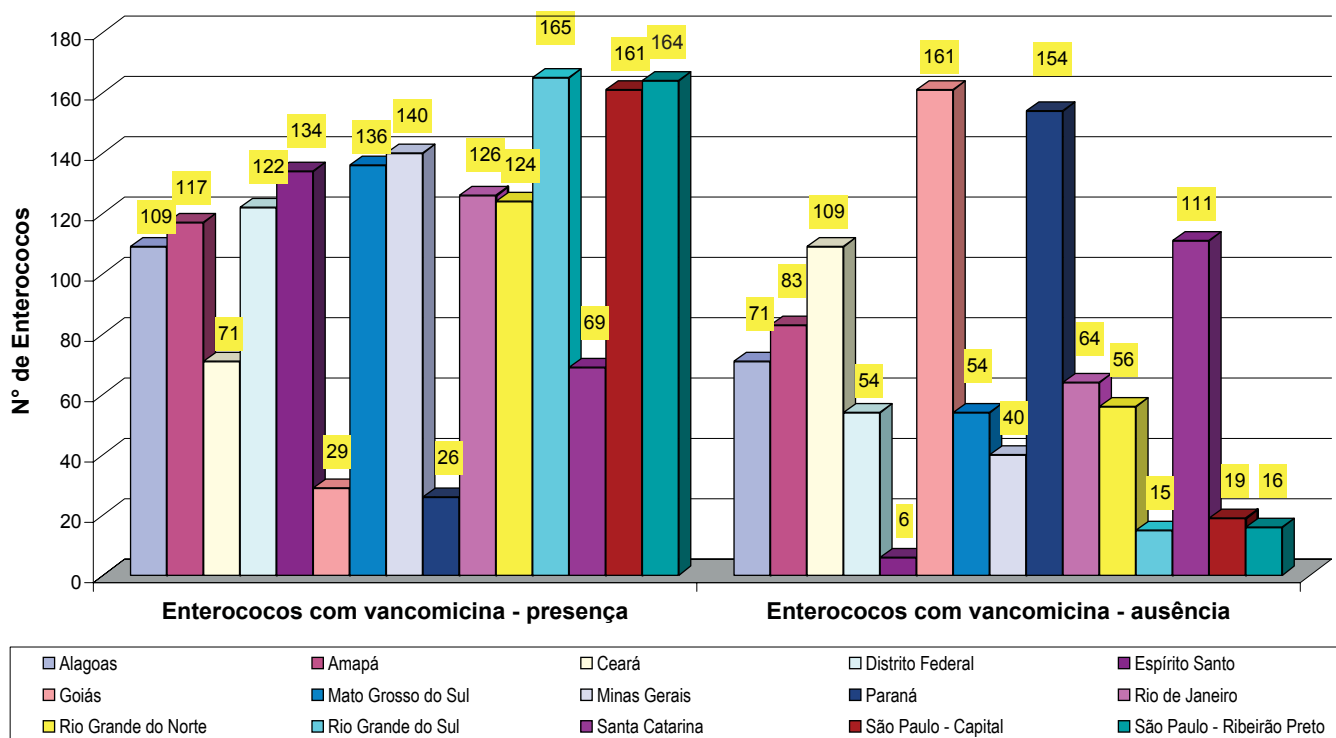


Figura 6: Presença e ausência de Enterococos em meio com vancomicina em amostras de frango colhidas nos Estados



Tabela 37: Presença e ausência de Enterococos em meios sem vancomicina nas amostras coletadas

ESTADO	ENTEROCOCOS SEM VANCOMICINA - PRESENÇA	ENTEROCOCOS SEM VANCOMICINA - AUSÊNCIA
Alagoas	160	20
Amapá	176	24
Ceará	174	6
Distrito Federal*	152	25
Espírito Santo	140	0
Goiás	189	1
Mato Grosso do Sul	190	0
Minas Gerais	178	2
Paraná	135	45
Rio de Janeiro	189	1
Rio Grande do Norte	180	0
Rio Grande do Sul	180	0
Santa Catarina	169	11
São Paulo - Capital	180	0
São Paulo - Ribeirão Preto	178	2
TOTAL	2570	137
%	94,94	5,06

*DF analisou 177 das 180 amostras.

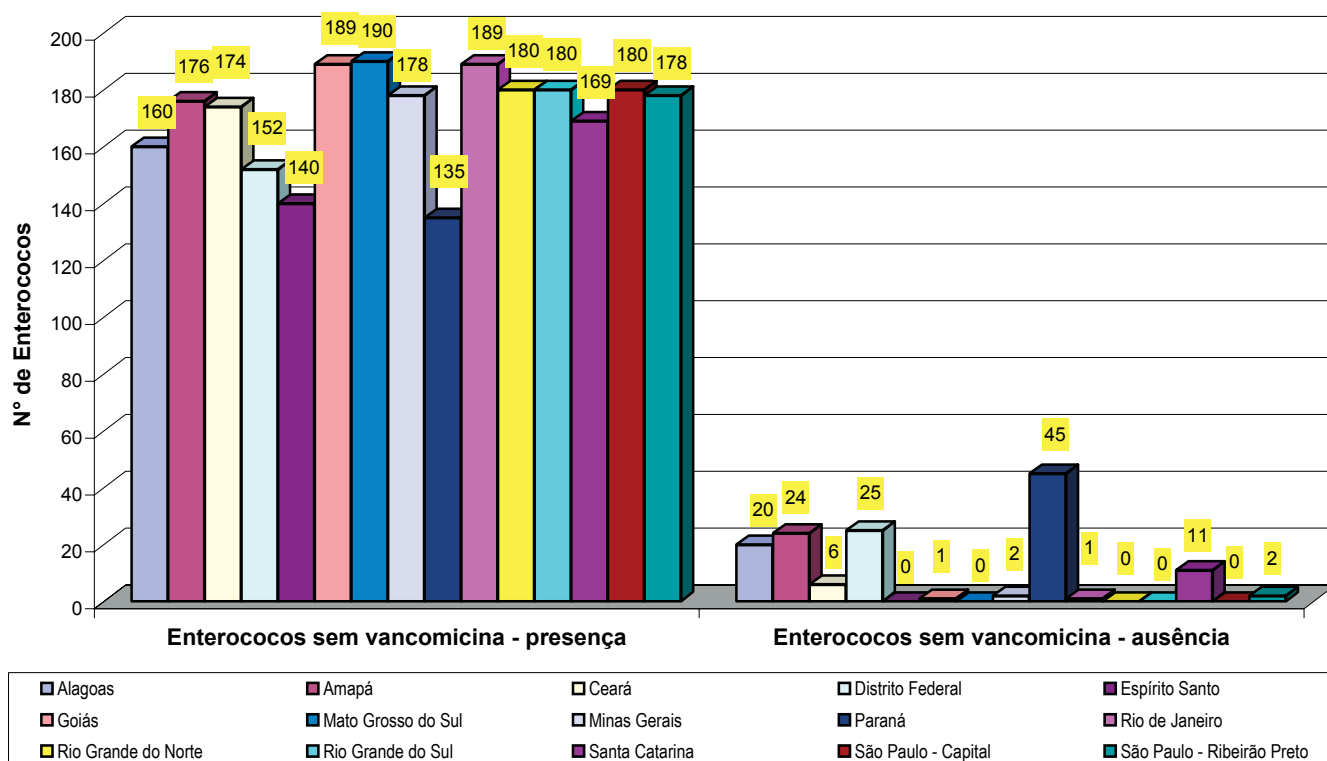


Figura 7: Presença e ausência de Enterococos em meio com vancomicina em amostras de frango colhidas nos Estados



Tabela 38: Presença e ausência de Salmonella spp detectadas nas amostras coletadas

ESTADO	SALMONELA - PRESENÇA	SALMONELA - AUSÊNCIA
Alagoas	9	171
Amapá	6	194
Ceará	5	175
Distrito Federal	5	175
Espírito Santo	0	140
Goiás	0	190
Mato Grosso do Sul	5	185
Minas Gerais	3	177
Paraná	2	178
Rio de Janeiro	3	187
Rio Grande do Norte	4	176
Rio Grande do Sul	8	172
Santa Catarina	6	174
São Paulo - Capital	16	164
São Paulo - Ribeirão Preto	10	170
TOTAL	82 (4%)	2628 (96%)
	2710	

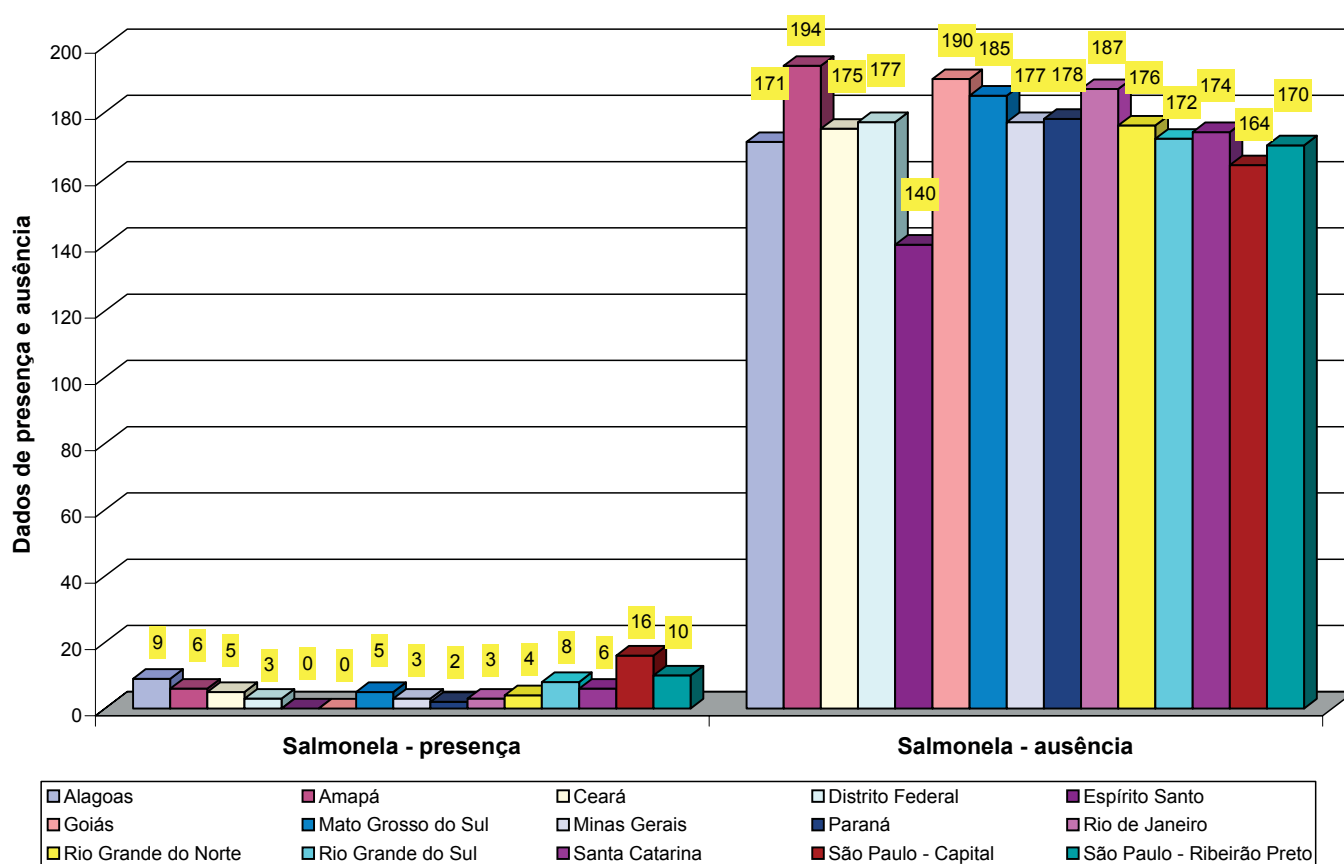


Figura 8: Presença e ausência de Salmonella spp detectadas nas amostras coletadas



Quanto as análises para “contagem de *Salmonella sp*”, mediante a determinação do número mais provável (NMP/g), a meta era realizar esses ensaios em 25% das unidades amostrais de carcaças congeladas de frango (01 em cada grupo de 05), ou seja, em 678 carcaças congeladas de frango. A partir dos laudos recebidos de cada laboratório (LACEN), foram registrados 634 ensaios realizados, sendo que 99,56% das unidades amostrais apresentaram contagem *Salmonella sp* menor que 0,03 NMP/g para um limite Superior de Confiabilidade (LSC) = 0,095/g.

5.3 ANÁLISES ESPECÍFICAS REALIZADAS PELOS LABORATÓRIOS DE REFERÊNCIA - IOC E IAL/SP.

5.3.1 *Salmonella spp*

Em uma análise preliminar, a caracterização antigênica dos isolados permitiu confirmar a identificação de 250 cepas distribuídas em 18 sorovares (Quadro 6, Figura 9), destacando-se maior frequência para *S. Enteritidis* em 48,8% das cepas, seguido de *S. Infantis* (7,6%), *S. Typhimurium* (7,2%), *S. Heidelberg* (6,4%), *S. Mbandaka* (4,8%) e 15 (5,2%) cepas caracterizadas como *Salmonella sp*.

Na avaliação geral, efetuada entre as cepas recebidas (não apresentado em tabela), sob o ponto de vista da região geográfica política atual, o maior número de isolamento de *Salmonella* foi obtido na região sudeste (126 das 250 cepas, 50,4%), sendo *S. Enteritidis* o sorovar mais incidente (60 cepas, 47,6). Este sorovar se apresentou disseminado em todas as regiões e período de análise, enquanto *S. Infantis* apenas na região sudeste, *S. Typhimurium*, regiões sudeste, norte e centro-oeste, *S. Mbandaka*, norte e nordeste e *S. Heidelberg* na sudeste.

Na epidemiologia da doença humana há predomínio de somente poucos sorovares, alguns se mantendo disseminados em estágio contínuo (*S. Typhimurium*), ou se apresentando como emergentes como *S. Enteritidis*, *S. Heidelberg*, *S. Infantis* e *S. Hadar* (WHO, 2006), destacando-se *S. Typhimurium* e *S. Enteritidis* como os mais frequentes em casos de infecção alimentar nos países desenvolvidos (Khakhria *et al.*, 1997; Threlfall, 2000; Ribot *et al.*, 2002; CDC, 2004; Velge *et al.*, 2005). Particularmente no Brasil, estes sorovares encontram-se entre os mais frequentemente isolados nas duas últimas décadas, sendo notória sua participação em isolados de origem humana e surtos de origem alimentar (Hofer & Reis, 1994; Hofer *et al.*, 1997, 1998, Rodrigues, 1994- 2005).

Quadro 6 - Distribuição e frequência dos diferentes sorovares de *Salmonella*.

Sorovar	N Sorovar	%
<i>S. Enteritidis</i>	122	48,8
<i>S. Typhimurium</i>	18	7,2
<i>S. Mbandaka</i>	12	4,8
<i>S. Give</i>	5	2,0
<i>S. Heidelberg</i>	16	6,4
<i>S. Infantis</i>	19	7,6
<i>S. Rissen</i>	8	3,2
<i>S. Newport</i>	2	0,8
<i>S. Panama</i>	5	2,0
<i>S. Agona</i>	9	3,6
<i>S. Schwarzengrund</i>	3	1,2
<i>S. Senftenberg</i>	3	1,2
<i>S. Minnesota</i>	3	1,2
<i>S. Lexington</i>	2	0,8
<i>S. Ohio</i>	3	1,2
<i>S. Gaminara</i>	1	0,4



<i>S. Saintpaul</i>	3	1,2
<i>S. Rubislaw</i>	1	0,4
<i>Salmonella spp.</i>	15	6,0
Total	250	100,0

A elevada freqüência do sorovar Enteritidis coaduna-se com os dados reportados na literatura nacional e internacional, inclusive por seu envolvimento com doença humana, principalmente de transmissão alimentar, tendo como fontes aves e derivados e, particularmente no caso de surtos, ovos crus ou mal cozidos. Da mesma forma destacam-se por sua importância os sorovares Typhimurium e Heidelberg, este último, se apresentando como um sorovar emergente (Rodrigues, 1994 -2005; Velge *et al.* 2005).

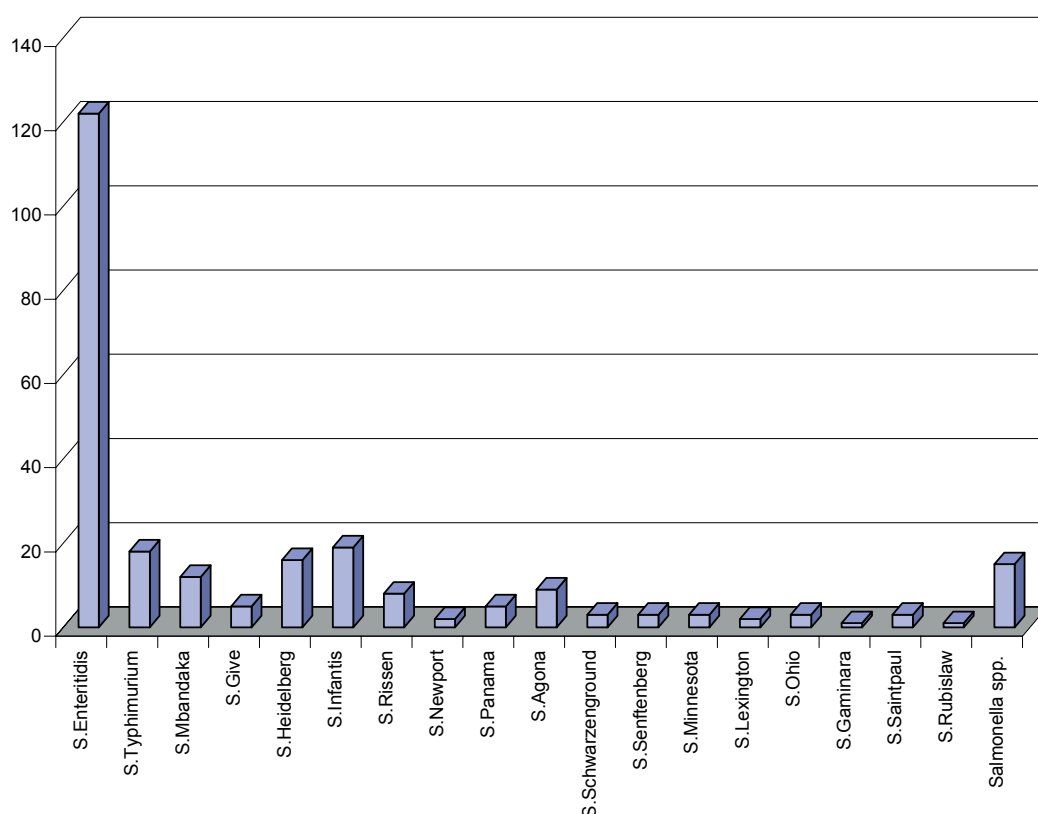


Figura 9: Distribuição e freqüência dos diferentes sorovares de Salmonella

A fagotipagem permitiu a identificação em *S. Enteritidis* dos fagotipos PT4 em 88 (74,6 %) das 118 cepas analisadas, PT1 (19,5%), PT5 (4,2%) e PT7a (1,7%), evidenciando ampla disseminação dos fagotipos PT4 e PT1 em todas as regiões e período de análise. Em relação a *S. Typhimurium*, foram identificados dois fagotipos, destacando-se o PT193 em 14 (82,3%) dos 17 isolados e o PT208 em 3 (17,6%) (Quadro 7, Figura 10). A elevada freqüência desses dois fagotipos (PT4 e PT193) está de acordo com o nível mundial de ocorrência e reforça a necessidade de estudos para avaliar a sua real significância em nosso meio.

Quadro 7 – Freqüência dos fagotipos de *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium*.

PT1	88
PT4	23
PT5	5
PT17a	2
PT193	14
PT208	3



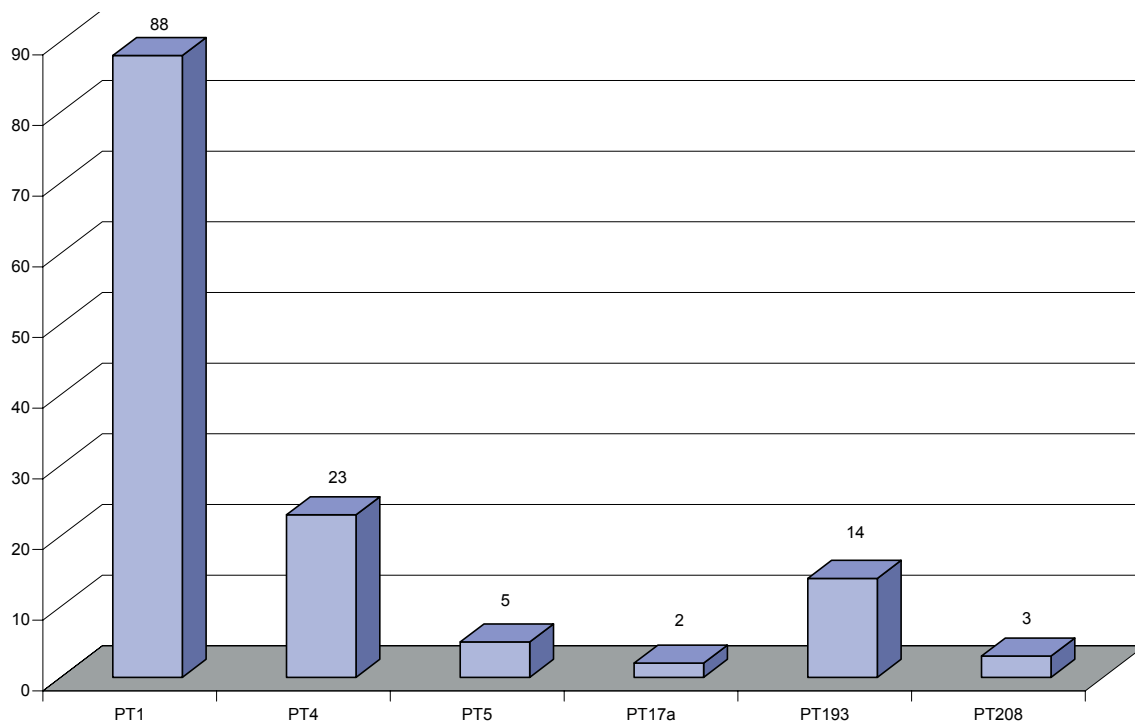


Figura 10. Frequência dos fagotipos de *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium*

O teste de suscetibilidade aos antimicrobianos através da determinação da concentração inibitória mínima, revelou que a totalidade das cepas apresentou resistência a uma ou mais drogas, tendo sido reconhecidos 98 perfis de multirresistência (>2 classes de antimicrobianos) em 192 (76,8%) cepas (Quadro 8, Figura 11). A tabela 3 evidencia que 39 perfis se apresentaram mais freqüentes em 69,3% das cepas multirresistentes, destacando-se modelos FLOR, STR, SSS, NAL em *S. Enteritidis* (10 cepas) e FLR, STR, CRO, CEP, TIO, SSS, AMP, ATM, em 9 (56,2%) das 16 cepas de *S. Heidelberg* (dados não apresentados em tabela). Reveste-se de importância a presença de *S. Heidelberg*, resistentes às cefalosporinas, incluindo aquelas de 3ª geração (CRO e TIO), empregadas no tratamento da salmonelose invasiva no homem e de uso terapêutico e/ou profilático em animais, respectivamente, devendo, portanto, ser considerado um alerta face às dificuldades sob o ponto de vista terapêutico, tendo em vista que este sorovar vem se apresentando emergente, particularmente em países da América do Norte e leste europeu, relevante a partir do ano de 2004. Um aspecto interessante refere-se a uma cepa de *S. Enteritidis* resistente a 6 classes de antimicrobianos envolvendo 13 marcadores de resistência (FOX, STR, TMP, CRO, CEP, TIO, SSS, CIP, AMP, NAL, ATM, SXT, NIT).

Quadro 8 - Distribuição do total de cepas de *Salmonella* spp. de acordo com a resistência a diferentes classes de drogas.

Nº de classes	Nº cepas
1	15
2	43
3	58
4	78
5	44
6	12



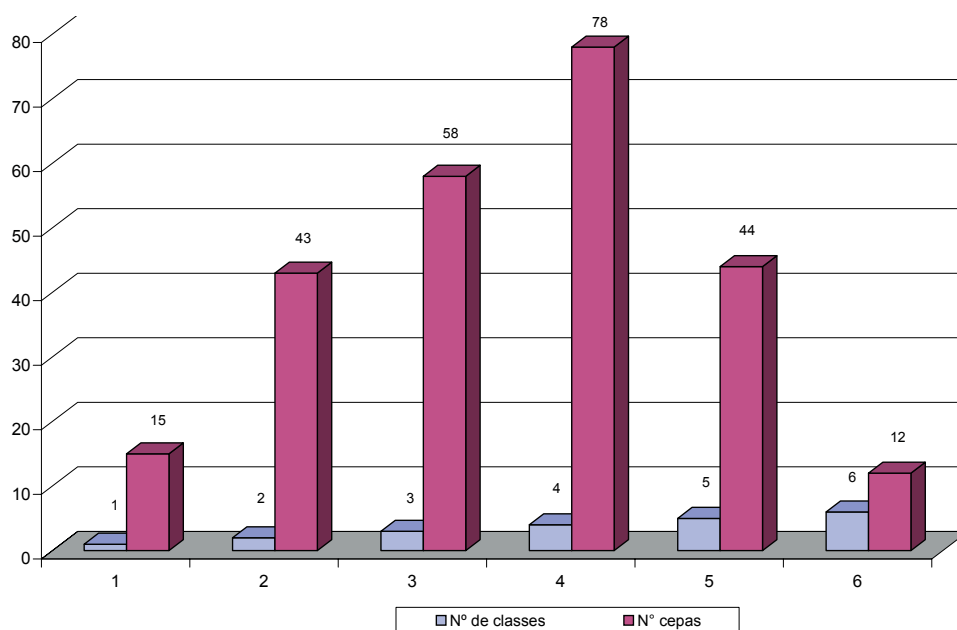


Figura 11: Distribuição do total de cepas de *Salmonella* spp. de acordo com a resistência a diferentes classes de drogas

Quando distribuídos por número de grupos de drogas a resistência dos sorovares de maior prevalência (Quadro 9, Figura 12), aponta-se um quadro extremamente preocupante especialmente em relação a *S. Enteritidis*, quando 91,8% das cepas são multirresistentes (≥ 3 classes).

Além das implicações em saúde pública, onde *Salmonella* spp. é um dos principais patógenos implicados em doenças de transmissão alimentar (DTA), particularmente a partir de produtos de origem animal, sua presença assume significativa importância mundial, em face da ocorrência de cepas multirresistentes a antimicrobianos, estando muitas vezes associada a surtos de DTA em vários países, incluindo o Brasil (Rodrigues, 2001-2007; Fluit, 2005). O cenário atual observado é altamente preocupante tendo em vista a transferência concomitante de plasmídeos de virulência e de resistência antimicrobiana. Observações recentes apontam que os quadros clínicos de maior gravidade são determinados por microrganismos que apresentam fenótipo de resistência antimicrobiana (FAO, 2007).

Assim, dada a relevância da correlação entre os agentes antimicrobianos empregados no tratamento humano de infecções determinadas por este microrganismo e aqueles de uso na produção animal, o teste de suscetibilidade aos antimicrobianos através da determinação da concentração inibitória mínima foi realizado empregando diferentes fármacos, sendo um grupo representado por aqueles amplamente utilizados no passado e até os dias atuais e outro, abrangendo os antimicrobianos considerados mais recentes.

Particularizando-se os resultados, verificamos que os maiores percentuais de resistência (Quadro 10, Figura 13) foram obtidos para estreptomicina (89,3%), sulfonamida (72,4%), florfenicol (59,2%), ampicilina (44,8%), ácido nalidixico (44,0%), ceftiofur (22,8%), aztreonam (20,4%), enrofloxacin (18,4%), cefoxitina (17,3%) e cefalotina (12,4%), enquanto para CHL, observou-se apenas grau intermediário de sensibilidade em 8 (3,2%) cepas. Resistência a esses fármacos também tem sido notificada em salmonelas de origem aviária (Roy *et al.*, 2002; Logue *et al.*, 2003; Cui *et al.*, 2005; Berrang *et al.*, 2006). Apesar da proibição do uso de nitrofurantoina em animais de produção de alimentos, pelo MAPA em 2000, ressalta-se como resultado do PREBAF a detecção de 12,2% de cepas resistentes a este fármaco.



Quadro 9 - Distribuição dos sorovares multirresistentes de *Salmonella* a diferentes classes de antimicrobianos.

4 classes	5 classes	6 classes
44	28	7
3	3	2
0	2	3
1	2	0
14	2	0
5	3	0
2	0	0
0	0	0
0	0	0
0	3	0
0	0	0
2	0	0
2	0	0
5	1	0

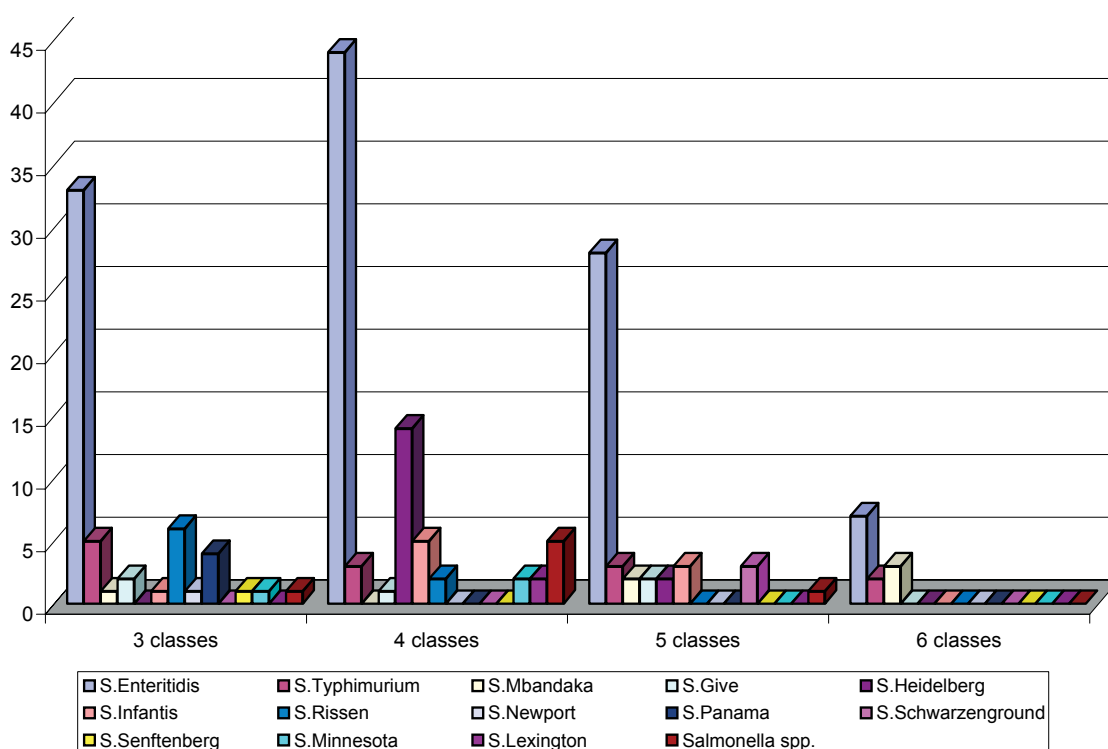


Figura 12. Distribuição dos sorovares multirresistentes de *Salmonella* a diferentes classes de antimicrobianos

Os elevados percentuais de resistência aos antimicrobianos nas cepas analisadas, alertam para uma condição de risco à saúde pública, tendo em vista as possíveis implicações no tratamento de quadros clínicos graves de salmonelose. Enfatiza-se a importância de dar prosseguimento ao presente estudo no sentido de caracterizar os clones multirresistentes quanto a sua capacidade de albergar e, obviamente, disseminar genes de resistência a antimicrobianos.



Quadro 10 - Frequência e distribuição dos marcos de resistência nas 250 cepas de *Salmonella* no período de 2004 a 2006.

		2004	2005	2006
1	FOX	20,5	14,6	19,1
2	FLOR	92,9	84,6	13,8
3	STR	35,9	100	100
4	ENR	64,1	17,1	1,1
5	TMP	2,6	9,4	15,9
6	CRO	0	11,1	8,5
7	CEP	15,4	19,6	2,1
8	TIO	17,9	19,6	28,7
9	SSS	56,4	66,6	86,2
10	CIP	0	0	1,1
11	GEN	0	6	0
12	AMP	79,5	62,3	8,5
13	TCY	20,5	15,4	2,1
14	CHL	0	0	0
15	NAL	51,3	36,7	50
16	ATM	0	29,9	17
17	SXT	0	6,8	14,9
18	NIT	50	10,7	4,8

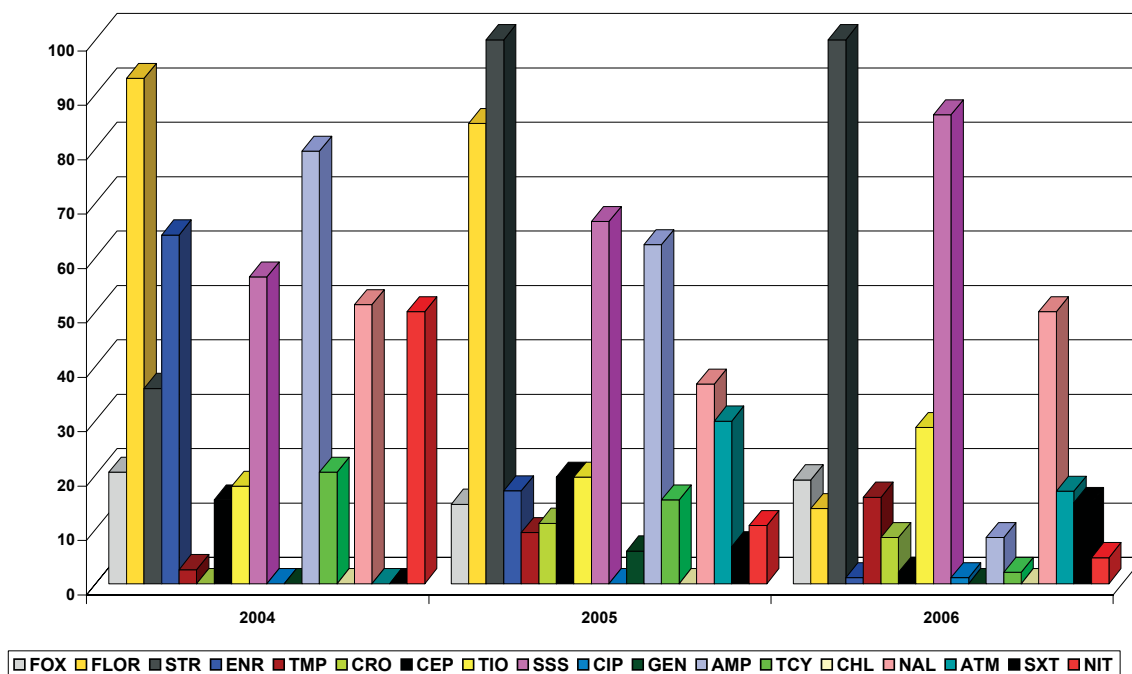


Figura 13. Frequência e distribuição dos marcos de resistência nas 250 cepas de *Salmonella* no período de 2004 a 2006



5.3.2 *Enterococcus* sp

Um total de 542 amostras (1 amostra = 5 unidades de frango), perfazendo 2.710 unidades amostrais, foram analisadas no período de 2004 a 2006, quanto a presença de Enterococos e desse total, 535 (98,7%) amostras foram positivas para esta bactéria. Um total de 8.188 colônias, identificadas como gênero *Enterococcus* pelo Laboratório Central dos Estados participantes no Programa, foram enviadas ao Instituto Adolfo Lutz de São Paulo para determinação da espécie. A Tabela 39 e a Figura 14 mostram o número de colônias enviadas por Estado para a identificação da espécie. Entre as diferentes espécies já descritas no gênero *Enterococcus*, doze delas puderam ser identificadas entre as 8.160 colônias caracterizadas, como mostra a Tabela 40. Contudo, pudemos observar que houve uma predominância de quatro espécies: *E. faecalis* (61,4%), *E. gallinarum* (28,7%), *E. casseliflavus* (5,06%) e *E. faecium* (2,2) que estão representando cerca de 97% do total das colônias identificadas. Na Tabela 41, temos a distribuição das 12 espécies identificadas com relação a região geográfica, e podemos observar que as quatro principais espécies estão uniformemente distribuídas entre as cinco regiões.

Tabela 39: Número de colônias do gênero *Enterococcus* recebidas pelo Instituto Adolfo Lutz, no período de 2004 a 2006.

ESTADO	N . DE COLÔNIAS RECEBIDAS
AL	489
AP	497
CE	482
DF	529
ES	517
GO	436
MG	635
MS	654
PR	309
RJ	587
RN	575
RS	641
SC	500
SP*	679 + 658
Total	8188

* SP: laboratórios de SP e RP



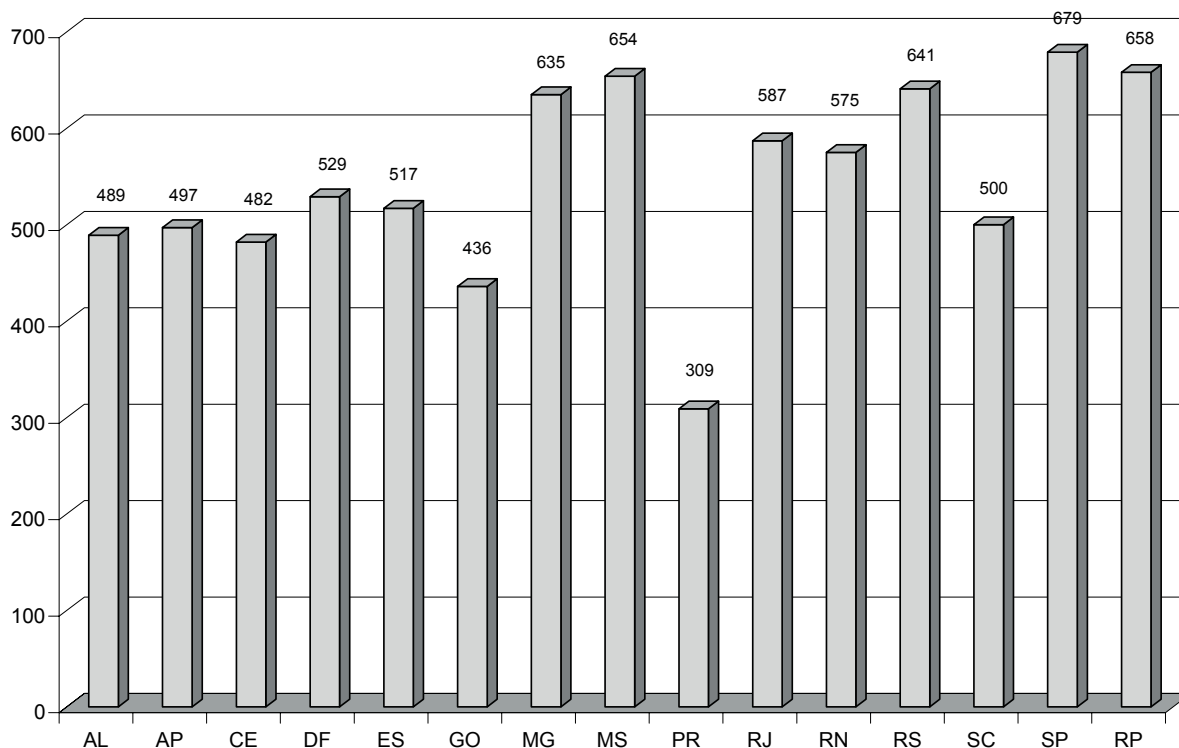


Figura 14: Nº de colônias de enterococos recebidas por estado participante- IAL 2004 - 2006 - PREBAF 2007

Tabela 40: Distribuição das espécies do Gênero *Enterococcus* das amostras enviadas pelos Lacen ao IAL, no período de 2004 a 2006.

ESPÉCIES DE ENTEROCOCOS IDENTIFICADAS							
Estado	<i>E. avium</i>	<i>E. casseliflavus</i>	<i>E. columbae</i>	<i>E. dispar</i>	<i>E. durans</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i>
AL	-	16	-	2	3	302	5
AP	-	34	-	-	7	256	24
CE	-	30	-	-	2	327	17
DF	-	13	-	2	13	391	18
ES	-	10	-	-	8	288	10
GO	-	8	-	-	3	375	8
MG	-	51	-	-	-	389	1
MS	-	8	-	1	2	408	4
PR	-	9	-	-	1	254	7
RJ	-	46	-	1	6	338	31
RN	-	28	-	-	1	328	3
RS	1	56	-	1	4	361	5
SC	-	35	-	5	13	314	22
SP*	1	69	1	5	14	679	24
Total	2 (0,024)	413 (5,06)	1 (0,012)	17 (0,21)	77 (0,95)	5010 (61,4)	179 (2,2)

**E. casseliflavus* (5,06%) e *E. gallinarum* (28,7%) são espécies naturalmente resistentes à vancomicina. *E. faecalis* (61,4%) e *E. faecium* (2,2%) são predominantes em material clínico porém nas carcaças de frango foram prevalentes mas não resistentes à vancomicina (1% de resistência).



Tabela 41: Distribuição das espécies do Gênero *Enterococcus* das amostras enviadas pelos Lacen ao IAL, no período de 2004 a 2006 (continuação).

ESPÉCIES DE ENTEROCOCOS IDENTIFICADAS							
Estado	<i>E. gallinarum</i>	<i>E. hirae</i>	<i>E. rannosus</i>	<i>E. mundtii</i>	<i>E. ratti</i>	<i>Enterococcus sp</i>	Total
AL	149	5	-	-	-	7	489
AP	153	10	-	1	-	10	495
CE	102	2	-	-	-	1	481
DF	73	9	-	-	-	8	527
ES	187	4	-	2	-	7	516
GO	42	-	-	-	-	-	436
MG	189	-	-	-	-	-	630
MS	226	1	-	-	-	2	652
PR	36	-	-	-	-	2	309
RJ	152	7	-	-	1	3	585
RN	197	5	1	-	-	6	569
RS	209	-	-	1	-	2	640
SC	96	10	-	2	-	2	499
SP*	532	5	-	1	-	1	1332
Total	2343 (28,7)*	58 (0,71)	1 (0,012)	7 (0,09)	1 (0,012)	51 (0,62)	8160

Tabela 42: Distribuição das espécies do Gênero *Enterococcus* por região geográfica, recebidas no período de 2003 a 2006.

REGIÃO GEOGRÁFICA	ESPÉCIES DE ENTEROCOCOS IDENTIFICADAS						
	<i>E. avium</i>	<i>E. casseliflavus</i>	<i>E. columbae</i>	<i>E. dispar</i>	<i>E. durans</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i>
NORTE	-	34	-	-	7	256	24
NORDESTE	-	74	-	2	6	957	25
CENTRO-OESTE	-	29	-	3	18	1174	30
SUDESTE	1	176	1	6	28	1694	66
SUL	1	100	-	6	18	929	34
Total (N/%)	2 (0,024)	413 (5,06)	1 (0,012)	17 (0,21)	77 (0,95)	5010 (61,4)	179 (2,2)



Tabela 42a: Distribuição das espécies do Gênero *Enterococcus* por região geográfica, recebidas no período de 2004 a 2006 (continuação)

REGIÃO GEOGRÁFICA	ESPÉCIES DE ENTEROCOCOS IDENTIFICADAS						Total (N/%)
	<i>E. gallinarum</i>	<i>E. hirae</i>	<i>E. ra nosus</i>	<i>E. mundtii</i>	<i>E. ratti</i>	<i>Enterococcus sp</i>	
NORTE	153	10	-	1	-	10	495 (6,1)
NORDESTE	448	12	1	-	-	14	1539 (18,9)
CENTRO-OESTE	341	10	-	-	-	10	1615 (19,8)
SUDESTE	1060	16	-	3	1	11	3063 (37,5)
SUL	341	10	-	3	-	6	1448 (17,7)
Total (N/%)	2343 (28,7)	58 (0,71)	1 (0,012)	7 (0,09)	1 (0,012)	51 (0,62)	8160

O critério para seleção da amostragem para determinação do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos, foi feito baseando-se no número de vezes que cada marca foi analisada para a presença de Enterococos. Portanto, a marca que foi analisada por até 5 vezes diferentes, todas as amostras desta marca foram selecionadas para o teste de perfil de suscetibilidade. A marca que foi analisada por 6 até 10 vezes, 50% das amostras desta marca foram selecionadas; a marca que foi analisada por 11 a 25 vezes, 25% das amostras foram selecionadas e a marca que foi analisada por mais de 25 vezes, 15% das amostras. Quando houve marca cujo estado produtor era mais que um, a seleção da amostragem para o teste de suscetibilidade foi feita também levando em consideração a informação do número de amostras por estado produtor.

Portanto, 262 (48%) amostras, representadas por 2.136 colônias, foram avaliadas quanto ao perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos pela técnica de microdiluição em caldo (CIM), segundo critérios do CLSI de 2007. Os antibióticos testados foram: vancomicina (Van), teicoplanina (Tei), ampicilina (Amp), tetraciclina (Tet), ciprofloxacina (Cip), eritromicina (Eri), cloranfenicol (Co), linezolida (Lnz), quinupristina-dalfopristina (Qda), gentamicina (Gn) e estreptomicina (St). Conforme o gráfico 1, podemos observar que cerca de 75% das colônias avaliadas apresentaram suscetibilidade à vancomicina, cerca de 24% apresentaram resistência intermediária e cerca de 1% foram resistentes totais a este antibiótico (VRE). A resistência intermediária à vancomicina (24%) é representada pelas 506 colônias identificadas como *E. gallinarum* e *E. casseliflavus*, cujas espécies apresentam este perfil de resistência de forma intrínseca na bactéria. A resistência total à vancomicina (1%) foi detectada em 24 colônias que foram isoladas de dez amostras de frango enviadas por cinco laboratórios (ES, GO, RP, RS e SC) e esta resistência foi detectada em duas espécies, *E. faecalis* e *E. faecium*. Todas as colônias foram suscetíveis à ampicilina, 98,9% à teicoplanina, 96,4% à linezolida, 87,5% à gentamicina, 71% à estreptomicina. Entretanto, um menor nível de suscetibilidade foi detectado para ciprofloxacina (31,3%), cloranfenicol (26,9%), tetraciclina (19,6%), eritromicina (15,4%) e quinupristina-dalfopristina (4,5%).

Na Tabela 42 foi feita a distribuição do perfil de suscetibilidade aos 11 antibióticos testados para as quatro principais espécies identificadas. Podemos observar que a espécie *E. casseliflavus* apresentou maior suscetibilidade à tetraciclina (50,9%) e uma menor suscetibilidade à eritromicina (4,7%). A espécie *E. faecalis* foi a que apresentou menor suscetibilidade à quinupristina-dalfopristina (1,4%), com relação as outras 3 espécies.

Estas 2.136 colônias avaliadas quanto ao perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos representaram 104 marcas de frango diferentes, que foram positivas para o isolamento de Enterococos. Portanto, o Quadro 11 apresenta a distribuição do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos frente



aos diferentes Estados produtores desse alimento. Podemos observar que as colônias resistentes à vancomicina foram isoladas de amostras de frango produzidas pelos Estados de São Paulo, Santa Catarina, Paraná, Rio Grande do Sul e Distrito Federal, representando 9 marcas diferentes. Para os demais antimicrobianos podemos observar uma distribuição uniforme do perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos avaliados entre os estados produtores.

Tabela 43: Distribuição do perfil de susceptibilidade antimicrobiana das 2.135 colônias de *Enterococcus* spp, considerando os Estados produtores de frango para consumo humano.

ESTADO PRODUTOR	Glicopeptídeo			Glicopeptídeo			Aminoglicosídeo			Aminoglicosídeo			Penicilina		
	Vancomicina			Teicoplanina			Gentamicina			Estreptomicina			Ampicilina		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R
SP	66,3	31	2,7	97,3	-	2,7	81	-	19	69	-	31	100	-	-
SC	85,1	12	2,5	97,5	-	2,5	91,1	-	8,9	74,3	-	25,7	100	-	-
PR	78,3	21	0,4	99,6	-	0,4	77,5	-	22,5	68,5	-	31,5	100	-	-
MG	77,8	22	-	100	-	-	90,5	-	9,5	69,8	-	30,2	100	-	-
RS	63,6	36	0,8	99,2	-	0,8	83,8	-	16,2	74,7	-	25,3	100	-	-
PE	82,4	18	-	100	-	-	97,4	-	2,6	75,2	-	24,8	100	-	-
GO	92,4	39	-	100	-	-	94,5	-	5,5	69,2	-	30,8	100	-	-
MT	61,5	7,6	-	100	-	-	94,6	-	5,4	67,4	-	32,6	100	-	-
MS	44	9	-	100	-	-	100	-	-	81,1	-	18,9	100	-	-
BA	67,4	33	-	100	-	-	81,4	-	18,6	67,4	-	32,6	100	-	-
DF	83,8	11	5,4	94,6	-	5,4	73	-	27	54,1	-	45,9	100	-	-
RN	68,3	32	-	100	-	-	97,6	-	2,4	68,3	-	31,7	100	-	-
ES	77,5	30	-	100	-	-	100	-	-	72,5	-	27,5	100	-	-
PA	89,7	10	-	100	-	-	93,1	-	6,9	82,8	-	17,2	100	-	-
CE	73,3	27	-	100	-	-	100	-	-	63,3	-	36,7	100	-	-
RJ	60	40	-	100	-	-	100	-	-	53,3	-	46,7	100	-	-
AP	100	-	-	100	-	-	100	-	-	66,7	-	33,3	100	-	-
AL	66,7	33	-	100	-	-	100	-	-	100	-	-	100	-	-

Tabela 43a: Distribuição do perfil de susceptibilidade antimicrobiana das 2.135 colônias de *Enterococcus* spp, considerando os Estados produtores de frango para consumo humano (continuação).

ESTADO PRODUTOR	Tetraciclina			Macrolídeo			Fluoroquinolona		
	Tetraciclina			Eritromicina			Ciprofloxacina		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R
SP	13,5	1,5	85	17,5	21,2	61,3	33,3	34,5	32,3
SC	24,1	0,6	75,2	21,6	23,5	54,9	29,2	34,9	35,9
PR	31,5	1,1	67,4	13,8	36,6	49,6	29,3	45,7	25
MG	17,9	0,4	81,7	10,7	33,7	55,6	15,1	45,2	39,7
RS	8,7	0,4	90,9	17	20,6	62,5	33,6	41,9	24,5
PE	21,6	-	78,4	15,7	27,5	56,9	30,1	30,7	39,2
GO	13,2	1,1	85,7	17,6	15,4	67	52,7	31,9	15,4
MT	19,6	-	80,4	8,7	25	66,3	50	39,1	10,9



MS	13,2	-	86,8	11,3	18,9	69,8	45,3	20,8	34
BA	11,6	2,3	86	20,9	37,2	41,9	20,9	48,8	30,2
DF	8,1	-	91,9	5,4	5,4	89,2	48,6	-	51,4
RN	24,4	-	75,6	14,6	26,8	58,5	19,5	48,8	31,7
ES	27,5	-	72,5	-	32,5	67,5	25	32,5	42,5
PA	44,8	-	55,2	17,2	37,9	44,8	69	13,8	17,2
CE	36,7	-	63,3	10	43,3	46,7	10	63,3	26,7
RJ	26,7	-	73,3	20	20	60	33,3	6,7	6,7
AP	33,3	-	66,7	16,7	16,7	66,7	66,7	16,7	16,7
AL	-	-	100	-	33,6	66,7	-	33,6	66,7

Tabela 43b: Distribuição do perfil de susceptibilidade antimicrobiana das 2.135 colônias de *Enterococcus* spp, considerando os Estados produtores de frango para consumo humano (continuação).

ESTADO PRODUTOR	Fenicol			Oxazolidinona			Estreptogramina		
	Cloranfenicol			Linezolid			Quinupristina-Dalfopristina		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R
SP	43,3	32	24,6	93,5	2,2	4,3	11,7	6,6	81,6
SC	16,8	57,8	25,4	98,7	0,4	0,9	5	9,5	85,6
PR	29,3	52,5	18,1	99,1	0,9	-	3,4	6,3	90,3
MG	27	55,1	17,9	86,6	9,4	4	4	1,5	94,6
RS	19,4	52,2	28,5	100	-	-	0,7	10,5	88,9
PE	20,9	40,5	38,6	100	-	-	4,5	3	92,5
GO	36,3	25,3	38,5	100	-	-	10	-	90
MT	3,3	64,1	32,6	100	-	-	2,2	1,1	96,7
MS	22,6	32,1	45,3	100	-	-	100	-	-
BA	27,9	46,5	25,6	100	-	-	6,7	13,3	80
DF	35,1	16,2	48,6	100	-	-	-	5,4	94,6
RN	14,6	39	46,3	100	-	-	-	13	87
ES	35	27,5	37,5	100	-	-	7,7	10,3	82,1
PA	41,4	27,6	31	100	-	-	-	10	90
CE	16,7	56,7	26,7	80	13,3	6,7	90	-	10
RJ	80	13,3	6,7	100	-	-	40	6,7	53,3
AP	33,3	50	16,7	100	-	-	100	-	-
AL	100	-	-	100	-	-	66,7	33,3	66,7

Quadro 11: Distribuição do perfil de suscetibilidade de 2.135 colônias de *Enterococcus* sp – PREBAF 2007.

S	I	R
75,2	23,7	1,1
98,9	0	1,1
100	0	0
19,6	0,7	79,7
31,3	38,2	30,6
15,4	25,9	58,7



26,9	45,9	27,2
96,4	2,1	1,5
4,5	6,1	89,6
87,5	0	12,5
71	0	29

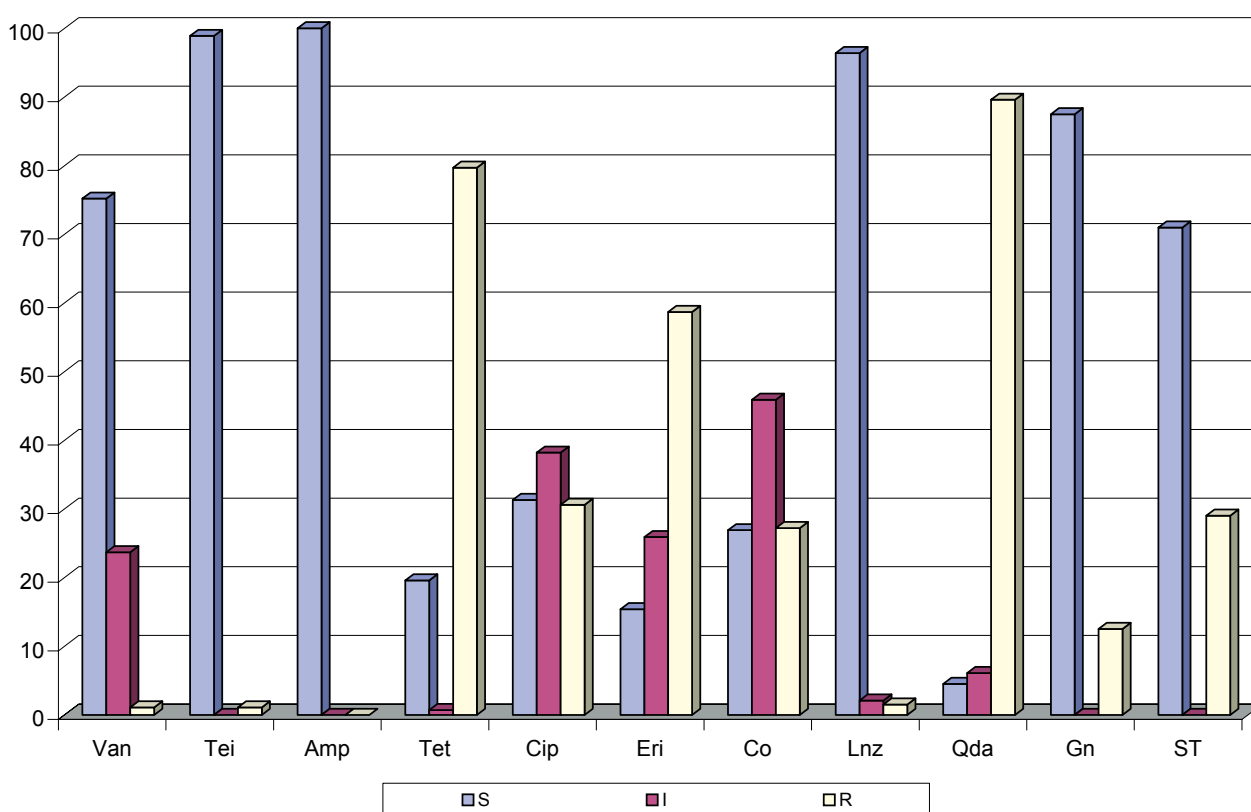


Figura 15: Perfil de suscetibilidade de 2.135 colônias de *Enterococcus* sp

Quadro 12: Perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos de 1.630 colônias de *Enterococcus* spp excluindo as espécies que apresentam resistência intrínseca para vancomicina (*E. gallinarum* e *E. Casseliflavus*).

ANTIMICROBIANO	S	I	R
Van	98,5	0	1,5
Tei	98,5	0	1,5
Amp	100	0	0
Tet	19,6	0,7	79,7
Cip	32,8	39,7	27,5
Eri	14,6	27,1	58,3
Co	24,3	48,2	27,5
Lnz	97,5	1,3	1,2
Qda	3,4	1,4	95,2
Gn	90	0	10
ST	70,3	0	29,7



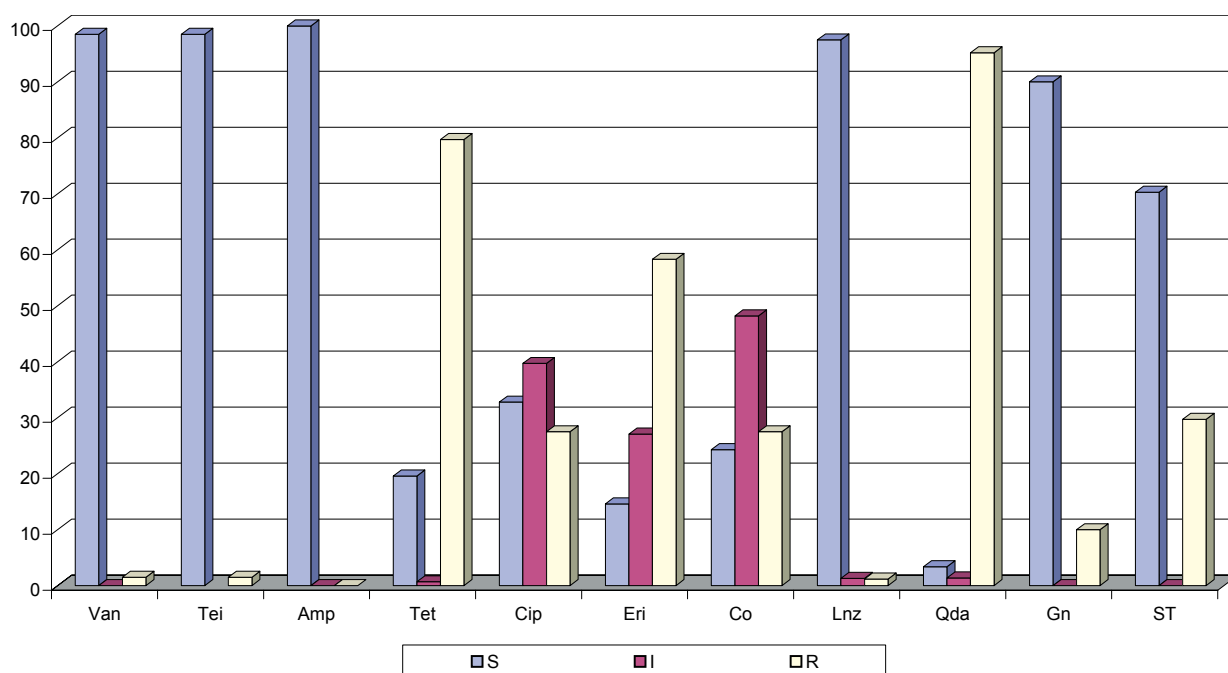


Figura 16: Perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos de 1.630 colônias de *Enterococcus spp* excluindo as espécies que apresentam resistência intrínseca para vancomicina (*E. gallinarum* e *E. Casseliflavus*).

Quadro 13: Perfil de suscetibilidade antimicrobiana de 506 colônias de *E. gallinarum* e *E. casseliflavus*.

Antimicrobiano	S	I	R
Van	0	100	0
Tei	100	0	0
Amp	100	0	0
Tet	18,6	0,8	80,6
Cip	27,5	31,6	40,9
Eri	18,2	23,3	58,5
Co	37,7	37	25,3
Lnz	91,2	5,5	3,3
Qda	13,4	28,6	58
Gn	79,1	0	20,9
ST	73,1	0	26,9



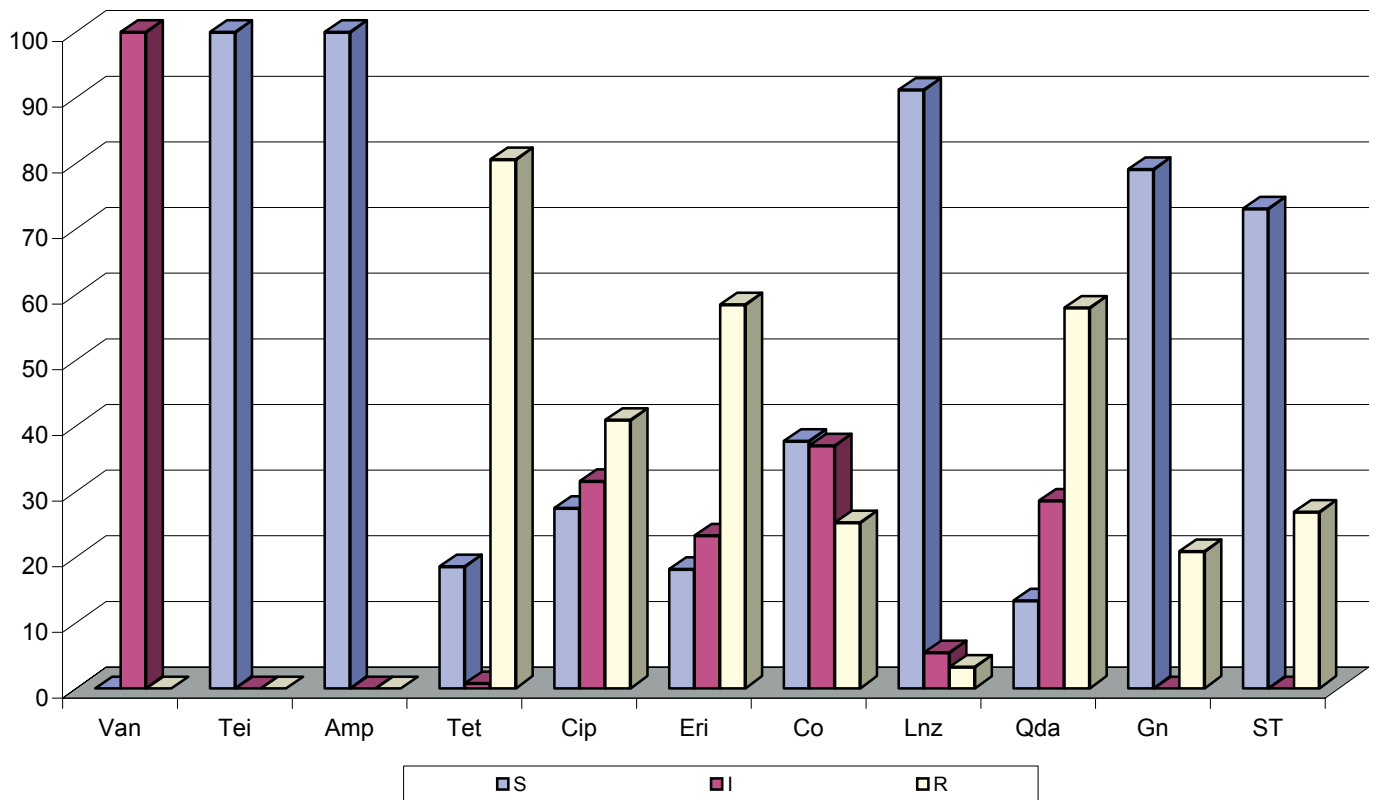


Figura 17: Perfil de suscetibilidade antimicrobiana de 506 colônias de *E. gallinarum* e *E. casseliflavus*.

Quadro 14: Distribuição do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos das principais espécies de *Enterococcus* identificadas.

Espécies	Glicopeptídeo			Glicopeptídeo			Aminoglicosídeo			Aminoglicosídeo		
	Vancomicina			Teicoplanina			Gentamicina			Estreptomicina		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R
<i>E. faecalis</i> (N=1.501)	99,7	-	0,3	99,7	-	0,3	89,9	-	10,1	70,2	-	29,8
<i>E. faecium</i> (N=82)	75,6	-	24,4	75,6	-	24,4	91,5	-	8,5	62,2	-	37,8
<i>E. gallinarum</i> (N=400)	-	100	-	-	100	-	75,3	-	24,7	69,8	-	30,3
<i>E. casseliflavus</i> (N=106)	-	100	-	-	100	-	93,4	-	6,6	85,8	-	14,2



Quadro 14a: Distribuição do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos das principais espécies de *Enterococcus* identificadas (continuação).

Espécies	Penicilina			Tetraciclina			Estreptogramina		
	Ampicilina			Tetraciclina			Quinupristina-Dalfopristina		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R
<i>E. faecalis</i> (N=1.501)	100	-	-	19,5	0,7	79,7	1,4	0,4	98,2
<i>E. faecium</i> (N=82)	100	-	-	11	-	89	22,1	7,4	70,6
<i>E. gallinarum</i> (N=400)	100	-	-	10	1	89	12,3	27,8	59,9
<i>E. casseliflavus</i> (N=106)	100	-	-	50,9	-	49,1	16	30,7	53,3

Quadro 14b: Distribuição do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos das principais espécies de *Enterococcus* identificadas (continuação).

Espécies	Macrolídeo			Fluoroquinolona			Fenicol			Oxazolidinona		
	Eritromicina			Ciprofloxacina			Cloranfenicol			Linezolida		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R
<i>E. faecalis</i> (N=1.501)	13,9	27,5	58,5	32,2	41,7	26,7	21,5	50,7	27,8	97,5	1,4	1,1
<i>E. faecium</i> (N=82)	12,2	22	65,9	31,7	12,2	56,1	54,9	15,9	29,3	97,1	-	2,9
<i>E. gallinarum</i> (N=400)	21,8	16,3	62	27,8	29,3	43	37,3	36,8	26	91,1	5,2	3,6
<i>E. casseliflavus</i> (N=106)	4,7	50	45,3	26,4	40,6	33	39,6	37,7	22,6	91,3	6,2	2,5

Quadro 15: Distribuição do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos das principais espécies de *Enterococcus* identificadas, por estado.

ESTADO PRODUTOR	Glicopeptídeo			Glicopeptídeo			Aminoglicosídeo			Aminoglicosídeo		
	Vancomicina			Teicoplanina			Gentamicina			Estreptomicina		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R
SP	66,3	31	2,7	97,3	-	2,7	81	-	19	69	-	31
SC	85,1	12	2,5	97,5	-	2,5	91,1	-	8,9	74,3	-	25,7
PR	78,3	21	0,4	99,6	-	0,4	77,5	-	22,5	68,5	-	31,5
MG	77,8	22	-	100	-	-	90,5	-	9,5	69,8	-	30,2
RS	63,6	36	0,8	99,2	-	0,8	83,8	-	16,2	74,7	-	25,3



PE	82,4	18	-	100	-	-	97,4	-	2,6	75,2	-	24,8
GO	92,4	39	-	100	-	-	94,5	-	5,5	69,2	-	30,8
MT	61,5	7,6	-	100	-	-	94,6	-	5,4	67,4	-	32,6
MS	44	9	-	100	-	-	100	-	-	81,1	-	18,9
BA	67,4	33	-	100	-	-	81,4	-	18,6	67,4	-	32,6
DF	83,8	11	5,4	94,6	-	5,4	73	-	27	54,1	-	45,9
RN	68,3	32	-	100	-	-	97,6	-	2,4	68,3	-	31,7
ES	77,5	30	-	100	-	-	100	-	-	72,5	-	27,5
PA	89,7	10	-	100	-	-	93,1	-	6,9	82,8	-	17,2
CE	73,3	27	-	100	-	-	100	-	-	63,3	-	36,7
RJ	60	40	-	100	-	-	100	-	-	53,3	-	46,7
AP	100	-	-	100	-	-	100	-	-	66,7	-	33,3
AL	66,7	33	-	100	-	-	100	-	-	100	-	-

Quadro 15a: Distribuição do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos das principais espécies de *Enterococcus* identificadas, por estado (continuação).

ESTADO PRODUTOR	Penicilina			Tetraciclina			Estreptogramina		
	Ampicilina			Tetraciclina			Quinupristina-Dalfopristina		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R
SP	100	-	-	13,5	1,5	85	11,7	6,6	81,6
SC	100	-	-	24,1	0,6	75,2	5	9,5	85,6
PR	100	-	-	31,5	1,1	67,4	3,4	6,3	90,3
MG	100	-	-	17,9	0,4	81,7	4	1,5	94,6
RS	100	-	-	8,7	0,4	90,9	0,7	10,5	88,9
PE	100	-	-	21,6	-	78,4	4,5	3	92,5
GO	100	-	-	13,2	1,1	85,7	10	-	90



MT	100	-	-	19,6	-	80,4	2,2	1,1	96,7
MS	100	-	-	13,2	-	86,8	100	-	-
BA	100	-	-	11,6	2,3	86	6,7	13,3	80
DF	100	-	-	8,1	-	91,9	-	5,4	94,6
RN	100	-	-	24,4	-	75,6	-	13	87
ES	100	-	-	27,5	-	72,5	7,7	10,3	82,1
PA	100	-	-	44,8	-	55,2	-	10	90
CE	100	-	-	36,7	-	63,3	90	-	10
RJ	100	-	-	26,7	-	73,3	40	6,7	53,3
AP	100	-	-	33,3	-	66,7	100	-	-
AL	100	-	-	-	-	100	66,7	33,3	66,7

Quadro 15b: Distribuição do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos das principais espécies de *Enterococcus* identificadas, por estado (continuação).

ESTADO PRODUTOR	Macrolídeo			Fluoroquinolona			Fenicol			Oxazolidinona		
	Eritromicina			Ciprofloxacina			Cloranfenicol			Linezolida		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R
SP	17,5	21,2	61,3	33,3	34,5	32,3	43,3	32	24,6	93,5	2,2	4,3
SC	21,6	23,5	54,9	29,2	34,9	35,9	16,8	57,8	25,4	98,7	0,4	0,9
PR	13,8	36,6	49,6	29,3	45,7	25	29,3	52,5	18,1	99,1	0,9	-
MG	10,7	33,7	55,6	15,1	45,2	39,7	27	55,1	17,9	86,6	9,4	4
RS	17	20,6	62,5	33,6	41,9	24,5	19,4	52,2	28,5	100	-	-
PE	15,7	27,5	56,9	30,1	30,7	39,2	20,9	40,5	38,6	100	-	-
GO	17,6	15,4	67	52,7	31,9	15,4	36,3	25,3	38,5	100	-	-
MT	8,7	25	66,3	50	39,1	10,9	3,3	64,1	32,6	100	-	-
MS	11,3	18,9	69,8	45,3	20,8	34	22,6	32,1	45,3	100	-	-



BA	20,9	37,2	41,9	20,9	48,8	30,2	27,9	46,5	25,6	100	-	-
DF	5,4	5,4	89,2	48,6	-	51,4	35,1	16,2	48,6	100	-	-
RN	14,6	26,8	58,5	19,5	48,8	31,7	14,6	39	46,3	100	-	-
ES	-	32,5	67,5	25	32,5	42,5	35	27,5	37,5	100	-	-
PA	17,2	37,9	44,8	69	13,8	17,2	41,4	27,6	31	100	-	-
CE	10	43,3	46,7	10	63,3	26,7	16,7	56,7	26,7	80	13,3	6,7
RJ	20	20	60	33,3	6,7	6,7	80	13,3	6,7	100	-	-
AP	16,7	16,7	66,7	66,7	16,7	16,7	33,3	50	16,7	100	-	-
AL	-	33,6	66,7	-	33,6	66,7	100	-	-	100	-	-

6. CONCLUSÕES

- O repasse de recursos financeiros da ANVISA aos executores do PREBAF, mediante convênios, foi da ordem de R\$ 1,5 milhão. Considerando o conjunto dos ensaios realizados pelos laboratórios participantes (verificação de rotulagem, isolamento, contagem, identificação de espécies e perfil de resistência a antimicrobianos de salmonelas e enterococos), o custo unitário das análises foi em média de R\$ 92,34/análises, num total de 16.244 ensaios realizados.
- *Salmonella spp* é reconhecida como importante patógeno de natureza zoonótica, que persiste assintomaticamente nas aves, podendo ser potencializada por falhas na aplicação das ferramentas de análise de perigos e pontos críticos de controle e de boas práticas. Tal situação se refletiu através do isolamento de *Salmonella spp.* em 4,0% das carcaças congeladas de frango analisadas no PREBAF, que embora sendo um nível de positividade relativamente baixo, no entanto sua presença em alimentos constitui-se um fator de risco para a saúde humana em nosso meio.
- Sob o ponto de vista da região geográfica, o maior número de isolamento de *Salmonella* foi obtido na região sudeste (50,4%), com prevalência de *S. Enteritidis*, seguido de *S. Typhimurium* nas regiões sudeste, norte e centro-oeste. O teste de suscetibilidade aos antimicrobianos revelou que a totalidade das cepas apresentou resistência a uma ou mais drogas usualmente empregadas em medicina humana e veterinária, tendo sido reconhecidos 98 perfis de multirresistência.
- A elevada frequência do sorovar *Enteritidis* coaduna-se com os dados reportados na literatura nacional e internacional, inclusive por seu envolvimento com doença humana, principalmente de transmissão alimentar, tendo como fontes aves e derivados e, particularmente no caso de surtos, ovos crus ou mal cozidos.
- Tanto em relação a salmonelas quanto aos enterococos, resistência cruzada foi observada entre drogas de última geração de uso exclusivo veterinário, com aquelas empregadas na clínica humana, provavelmente relacionada ao emprego de antimicrobianos nos animais, com finalidades terapêuticas, profiláticas ou como promotores do crescimento. Os elevados percentuais de resistência aos antimicrobianos nas cepas analisadas alertam para uma condição de risco à saúde pública, tendo em vista as possíveis implicações no tratamento de quadros clínicos graves de salmonelose.



Os dados do PREBAF mostram uma elevada positividade de *Enterococcus* sp, próxima de 100% nas análises realizadas em meio sem vancomicina.

Com relação ao possível impacto à saúde pública diante da situação aqui relatada, não se pode descartar que os perfis de resistência encontrados estejam associados ao uso, não controlado ou não assistido, de antimicrobianos na avicultura de corte (frango), propiciando o aparecimento de cepas resistentes dos dois microrganismos pesquisados, dificultando o seu controle.

Os antimicrobianos testados no PREBAF quanto ao perfil de suscetibilidade têm importância na medicina humana e veterinária, embora não se disponha de dados científicos relevantes sobre possíveis relações entre o uso de antimicrobianos em animais de produção e o aumento de resistência em bactérias isoladas do ser humano, esse é um aspecto de saúde pública que tem sido motivo de preocupação de organismos internacionais como a OMS, FAO, OIE e Codex Alimentarius.

A metodologia científica aplicada no PREBAF avaliou o perfil de suscetibilidade encontrado. Contudo, depreende-se dos dados obtidos que multifatores possam estar contribuindo tanto para os níveis de prevalência, quanto para os perfis de resistência encontrados, podendo-se destacar:

- contaminação, cruzada ou não, durante uma ou mais etapas da cadeia produtiva.
- particularmente em relação ao enterococos, sendo um microrganismo de origem fecal, a elevada presença do mesmo tem relação com as Boas Práticas Agrícolas, de Produção Animal e/ou de Fabricação;
- emprego de antimicrobianos na avicultura de corte (frango), utilizados como aditivos em ração, ou como promotores de crescimento e/ou com fins profiláticos, para a prevenção e controle da sanidade do rebanho;
- tratamento de carcaças, pós abate, através da utilização de coadjuvantes de tecnologia e/ou aditivos, como ferramentas que podem ser úteis na redução da contaminação.
- falhas nos sistemas de controle de produção/processamento, pois existem patógenos que necessitam de constante monitoramento, principalmente, aqueles que causam doenças humanas, com destaque para *Salmonella*, um dos objetivos do programa PREBAF.

Em relação à verificação de adequação dos rótulos às exigências da RDC nº 13/2001, os resultados das análises mostram que a grande maioria dos produtores de frango atendem ao estabelecido na legislação, que tem por objetivo instruir os consumidores quanto ao manuseio correto do produto, como medida de prevenção sobre agravos à saúde.

7. RECOMENDAÇÕES

- O presente documento traz dados relevantes à comunidade científica e aos gestores de risco, devendo a ANVISA ser motivada a divulgar o mesmo com urgência e com a maior amplitude possível.
- Torna-se necessário que se dê prosseguimento ao presente estudo, ampliando o seu contexto de modo a contemplar mais uma seqüência do monitoramento de *Salmonella* spp e *Enterococcus* sp, bem como iniciar a pesquisa sobre outros patógenos com comprovada intervenção na cadeia produtiva de frangos, de relevância em saúde pública, com destaque para: *Listeria* spp. e *Campylobacter* spp.
- Dado que o PREBAF foi importante como instrumento de aperfeiçoamento das ações de controle sanitário de alimentos, um novo estudo a ser executado em parceria com VISA e LACEN, considerando a inserção de novos Estados, se justifica pela necessidade de dar continuidade a pesquisa e monitoramento que possam subsidiar as opções de gerenciamento de risco, em relação ao alimento em questão (frango), de grande impacto na dieta do brasileiro.



- Tanto em relação as Salmonelas quanto aos Enterococos, a incidência de resistência a diversos antimicrobianos sinaliza a necessidade de estudos contínuos nessa linha de pesquisa, uma vez que medidas devem ser tomadas no sentido de racionalizar o excessivo uso de antibióticos no manejo de animais de abate, notadamente frangos.
- O novo estudo aqui proposto poderá ser delineado pela própria equipe que implementou o PREBAF, devendo o mesmo ser submetido oportunamente à aprovação da ANVISA. Preliminarmente, alguns objetivos específicos deverão ser levados em conta, tais como:
 - Considerar a carne de frango resfriada e cortes de frango (sem temperos) como a nova matriz de análise, em substituição a “carcaça congelada de frango”, pois é mais fácil coletar frango resfriado que está se tornando muito popular na dieta do brasileiro, além do que, no PREBAF foi relatada muita dificuldade para se encontrar carcaça congelada de frango no comercio.
 - Trabalhar com a pesquisa de *Salmonella* spp e *Enterococcus* sp, além de *Listeria* sp e *Campylobacter* spp, por também serem estes últimos referência para estudo de resistência a antimicrobianos.
 - Caracterizar os clones resistentes e multirresistentes, quanto a capacidade de albergar e, obviamente, disseminar genes de resistência, visando assegurar através do uso racional o tratamento clínico apropriado e orientar intervenções de saúde pública.
 - Detectar a magnitude da resistência aos antimicrobianos, particularmente em relação aos fármacos de escolha terapêutica humana.
 - Estabelecer parcerias com outras VISAs e LACENs que não participaram do PREBAF, para o desenvolvimento, validação e aplicação de metodologias e maior representatividade dos resultados.
 - Aumentar a parceria com outras VISA's e outros LACEN's que não participaram desse programa, visando ampliar o desenvolvimento, validação e aplicação de metodologias e a representatividade dos resultados.



8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AARESTRUP, F.M. Monitoring of antimicrobial resistance among food animals: principles and limitations. J. Vet. Med. B. Infect. Dis. Vet. Public Health. v. 51, p.380-388. 2004.
- ALEKSHUN, M. & LEVY, S. Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. Cell 128:1037-1050, 2007.
- ALMEIDA, I. C. *et al.* Isolamento e identificação de *Salmonella* em carcaças de frango congeladas e frescas, através de método rápido. Revista Higiene Alimentar, 2000, 14(70): 59-62.
- ANGULO, F.J., JOHNSON, K.R., TAUXE, R.V. & COHEN, M.L. Origins and consequences of antimicrobial-resistant nontyphoidal *Salmonella*: implications for the use of fluoroquinolones in foods animals. Microb. Drug. Resist. v. 6, p. 77-83. 2000.
- ANUALPEC – Anuário da pecuária brasileira. Institui IFNP, 370p., 2006.
- APLEY, M. *et al.* Role of veterinary therapeutics in bacterial resistance development: Animal and public health perspectives. JAVMA 212:1209-1213, 2001.
- BACK, A., BELTRÃO, N. & LEÃO, J.A. Monitoria e controle de *Salmonella*: Aspectos práticos. VII Simpósio Brasil Sul de Avicultura. Chapecó- SC. 2006.
- BAGER, F. *et al.* Avoparcin used as a growth promoter is associated with the occurrence of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* on Danish poultry and pig farms. Prev Vet Med 1997, 31(1-2):95-112.
- BALDY, J. L. S. Estreptococcias. In Veronesi, R & Focaccia, R. Tratado de Infectologia, Ed. Ateneu, São Paulo, 1997, p. 669-688.
- BANERJEE, S. N. *et al.* Secular trends in nosocomial primary bloodstream infections in the United States, 1980-1989. Am J Med 1991, 91(suppl. 3B):86-89.
- BARRETO, E.S. & RAMOS, S.M. Pesquisa de *Salmonella* em cortes congelados de frango comercializados no município do Rio de Janeiro. Hig. Alim. v.13, p.53-54. 1999
- BARROS, E. *et al.* Antimicrobianos: consulta rápida. 3. ed. Porto Alegre, ArtMed Editora, 2001.
- BARTON, M.D. Does the use of antibiotics in animals affect human health? Austr. Vet. 3: 177-180, 1998.
- BATES, J. Epidemiology of vancomycin –resistant enterococci in the community and the relevance of farm animals to human infection. J Hosp Infect 1997, 37:89-101.
- BERAGIE, R.; LYND, P.; TUCKER, E.; DURING, J. – Perinatal infection and vaginal flora. Am. J. Obstet. Gynecol., 122: 31-3, 1975.
- BERRANG, M.E., LADELY1, S.R., SIMMONS, M.D., FLETCHER, L. & FEDORKA-CRAY, P.J. Antimicrobial Resistance Patterns of *Salmonella* from Retail Chicken. Int. J. Poultry Sci. v. 5, p. 351-354. 2006
- BIROLLO, G. A., REINHEIMER, J. A., VINDEROLA, C. G. 2001. Enterococci vs. Nonlactic acid microflora as hygiene indicators for sweetened yoghurt. Food Microbiology 18, 597-604p.
- BOGAARD, A.E., STOBBERINGH, E. E. Antibiotic usage in animals: impact on bacterial resistance and public health. Drugs 58(4): 589-607. 1999.
- BOTTEZINI, I.M.P.; CORSO, M.P. E VEIT, V.M. Uso de Antibióticos na produção de Frango. Cefet/PR, www.dipemar.com.br/carne/309/materia_arttec_carne.htm. 2003.
- BOYCE, J. M. - Vancomycin-resistant *Enterococcus*. Detection, Epidemiology and Control Measures. Infect. Dis. Clin. North Am., 11: 367-84, 1997.



BOYCE, J. M.; OPAL, S. M.; CHOW, J. W.; ZERVOS, M. J.; POTTER-BYNOE, G.; SHERMAN, C. B.; ROMULO, R. L.; FORTNA, S.; MEDEIROS, A. A. – Outbreak of multidrug-resistant *Enterococcus faecium* with transferable *vanB* vancomycin resistance. *J. Clin. Microbiol.*, 32: 1148, 1994.

BOYLE, J. F.; SOUMAKIS, S. A.; RENDO, A.; HERRINGTON, J. A.; GIANARKIS, D. G.; THURBERG, B. E.; PAINTER, B. G. - Epidemiologic Analysis and genotypic characterization of a nosocomial outbreak of vancomycin-resistant enterococci. *J. Clin. Microbiol.*, 31: 1280-85, 1993.

BRADFORD, P. A. Extended-spectrum β -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin. Microbiol. Rev.* 14:933-951. 2001.

BRASIL, Decreto-lei nº 986, de 21 de outubro de 1969 – Institui normas básicas sobre alimentos

BRASIL, Instrução Normativa nº 14, de 29 de junho de 1999 – Aprova as Normas técnicas para Importação e Exportação de Aves de um dia e Ovos Férteis para incubação destinados a reprodução.

BRASIL, Instrução Normativa nº 22, de 12 de agosto de 1999 – Aprova as “Normas Técnicas para controle e Certificação de Núcleos e Estabelecimentos Avícolas como Livre de *Salmonella Gallinarum* e de *Salmonella Pullorum* e Livre ou Controlado para *Salmonella Enteritidis* e para *Salmonella Typhimurium*.”

BRASIL, Lei nº 6.198, de 26 de dezembro de 1974 – Dispõe sobre a inspeção e a fiscalização obrigatórias dos produtos destinados à alimentação animal e dá outras providências.

BRASIL, Lei nº 6.437, de 20 de agosto de 1977 – Configura as infrações à legislação sanitária federal, estabelece sanções respectivas e dá outras providências.

BRASIL, Portaria nº 1.428, de 26 de novembro de 1993 – Aprova o Regulamento Técnico para Inspeção Sanitária de Alimentos, as Diretrizes para Boas Práticas de Produção, o Regulamento Técnico para estabelecimento de Padrões de Identidade e Qualidade.

BRASIL, Portaria nº 542, de 16 de novembro de 1998 – Adota as “Normas de Higiene e Segurança Sanitária para Habilitação de Estabelecimentos Avícolas de Criação de Aves e Incubatórios Avícolas para o Intercâmbio no Mercosul.”

BRASIL, Portaria nº 448, de 10 de setembro de 1998 – Proíbe a presença de resíduos de cloranfenicol, flurazolidona e nitrofurazona em carne, leite e ovos oriundo de animais tratados.

BRASIL, Portaria SVS/MS nº 326, de 30 de julho de 1997 - Aprova o Regulamento Técnico “Condições Higiénico-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos”.

BRASIL, Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 - Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos.

BRASIL, Resolução RDC nº 13, de 02 de janeiro de 2001 - Aprova o Regulamento Técnico para Instruções de Uso, Preparo e Conservação na Rotulagem de Carne de Aves e seus Miúdos Crus, Resfriados ou Congelados.

BRASIL/MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO-MAPA. Instrução Normativa Nº 9 de 27/06/2003. Seção 1, p. 4. 2003.

BURDETT, V.; INAMINE, J.; RAJAGOPALAN, S. Heterogeneity of tetracycline resistance determinants in *Streptococcus*. *J. Bacteriol.*, 149: 995-1004, 1982.

BUSH, K. New β -lactamases in gram-negative bacteria: diversity and impact on the selection of antimicrobial therapy. *Clin. Infect. Dis.* v. 32, p.1085-1089. 2001.

BUSH, L. M.; CALMON, J.; CHERNEY, C. L.; WENDELER, M.; PITSAKIS, P.; POUPARD, J.; LEVISON, M. E.; JOHNSON, C.C. – High-level penicillin resistance among isolates of enterococci. *Ann. Intren. Med.*, 110: 515-20, 1989.



BRUNTON, J. Antibiotic resistance in streptococci. In: BRAYAN, L.T. **Antimicrobial Drug Resistance** ed. Academic Press, New York. 1984. p.530-65.

CAFFER, M.I.; TERRAGNO, R.; ALCAIN, A. & EIGUER, T. *Salmonella* serovars in Argentina: 1991-1995. In: **Salmonella and Salmonellosis Proceedings**. Zoopôle. Ploufragan, v. 20/22. p. 577-580. 1997.

CAPITA, R., ALVAREZ-ASTORGA, M., ALONSO-CALLEJA, C., MORENO, B.& GARCIA-FERNÁNDEZ, M.C. Occurrence of Salmonellae in retail carcasses and their products in Spain. *J. Food Microbiol.* v. 81, p. 169-173. 2003

CDC - Center for Disease Control and Prevention. Nosocomial enterococci resistant to vancomycin – United States, 1989-1993. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1993, 42:597-9.

CDC. Center for Disease Control and Prevention. *Salmonella* Surveillance: Annual Summary, 2003. Atlanta, Georgia: US Department of Health and Human. Services, CDC, 2004

CDC/ Center For Diseases Control. Update: *Salmonella enteritidis* Frequently Asked Questions www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/salment_g.htm acesso 20/03/2006

CERCENADO, E.; UNAL, S.; ELIOPOULOS, C. T.; *et al.* –Characterization of vancomycin resistance in *Enterococcus durans*. *J. Antimicrob. Chemother.*, 36: 821, 1995.

CEREDA, R. F. *et al.* In vitro susceptibility testing of 446 clinical isolates of gram-positive bacteria to new quinolones, carbapenems and cephalosporins. *Rev Assoc Med Bras* 1996, 42(3):130-4.

CLSI/NCCLS Clinical and Laboratory Standards Institute/National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. M101-S9, V.25 No. 1. 2006.

CLSI/NCCLS Clinical and Laboratory Standards Institute/National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. M100- A11-V23. 2005

CLSI/NCCLS Clinical and Laboratory Standards Institute/National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Informational Supplement. NCCLS document M31-S1. 2004

CODEX ALIMENTARIUS, Perfil de riesgos de las bacterias con resistencia a los agentes antimicrobianos em los alimentos, 2000.

COLLINS, M. D.; JONES, D.; FARROW J. A. E.; KILPPER-BÄLZ, R.; SCHLEIFER, K. H. - *Enterococcus avium* nom. rev. comb. nov.; *E. casseliflavus* nom. rev., comb. nov., *E. durans* nom. rev., comb. nov.; *E. gallinarum* comb. nov., and *E. malodoratus* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 34: 220-3, 1984.

COUVARLIN, P. – Resistance of enterococci to glycopeptides. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 34: 2291-4, 1990.

COUVARLIN, P.; CARLIER, C.; COLLATZ, E. – Plasmid-mediated resistance to amino-cyclitol antibiotics in group D streptococci. *J. Bacteriol.*, 143: 541-51, 1980.

CHAPENTIER, E.; GARBAUD, G.; COUVARLIN, P. Characterization of a new class of tetracycline-resistance gene *tetS* in *Listeria monocytogenes* BM4210. *Gene*, 6:27-34, 1993.

CUI, S., GE, B., ZHENG, J. & MENG, J. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* spp. and *Salmonella* serovars in organic chickens from Maryland retail stores. *Appl. Environ. Microbiol.* v.71 p.4108-4111. 2005

DANMAP 99. The Danish Integrated Antimicrobial Resistance Monitoring and Research Programme. Consumption of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, food and humans in Denmark. Mensagem disponível na Internet via <http://www.sva.dk>.

DANMAP. Use of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, foods and humans in Denmark. Disponível em <http://www.dfvp.dk/2003> .



DENMARK – The Danish Integrated Antimicrobial Resistance Monitoring and Research Programme (DANMAP), 1998.

DEVRIESE, L. A, POT, B., 1993. Phenotypic identification of the genus *Enterococcus* and differentiation of phylogenetically distinct enterococcal species and species groups. *Journal of Applied Bacteriology* 75, 399-408p.

DORDARI, S. Prevalence and drug sensitivity of *Salmonella* serogroups isolates in chicken meat of chain stores of Iran. ASM Conference. 9-13/9/06. Victoria, CN C-6 p. 39, 2006

DOYLE, M. P.; BEUCHAT, L. R.; MONTVILLE, T. J. *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*, 2ª edição – Washington. 1997.

DOYLE, M.E., MAZZOTTA, A.S. 2000. Review of studies on the thermal resistance of salmonellae. *J. Food Protection* 63: 779-795.

DUNNE, W. M. & WANG, W. – Clonal dissemination and colony morphotype variation of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* isolates in metropolitan Detroit, Michigan. *J. Clin. Microbiol.*, 35: 388-92, 1997.

DUTKA-MALEN, S.; BLAIMONT, B.; WAUTERS, G.; COUVALIN, P. – Emergence of high-level resistance to glycopeptides in *Enterococcus gallinarum* and *Enterococcus casseliflavus*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 38:1675-7, 1994.

DUTKA-MALEN S; EVERS S & COURVALIN P. Detection of glycopeptide resistance genotypes and identification to the species level of clinically relevant *Enterococci* by PCR. *J Clin Microb* 1995, 33(1):24-27.

DUTKA-MALEN, S.; MOLINAS, C.; ARTHUR, M. *et al.* – The VanA glycopeptide resistance protein is related to D-alanyl-D-alanine ligase cell wall biosynthesis enzymes. *Mol. Gen. Genet.*, 224: 364-72, 1990.

D'AOUST, J. Y. Antibiotic resistance of foodborne *Salmonella* spp. in Canada: 1999-2002. ASM Salmonella conference: Pathogenesis, Epidemiology, and Vaccine Development. 2004.

ELDESTEIN, H. & MCCABE, R. E. – Perinephric abscess. Modern diagnosis and treatment in 47 cases. *Medicine (Baltimore)* 67: 118-31, 1988.

ELIOPOULOS, G. M. - Vancomycin-resistant enterococci. *Infect. Dis. Clin. North Am.*, 11: 851-65, 1997.

ELIOPOULOS, G. M.; FARBER, B. F.; MURRAY, B. E. WENNERSTEN, C.; MOELLERING JR, R. C. – Ribosomal resistance of clinical enterococcal isolates to streptomycin. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 25: 398-9, 1984.

ELIOPOULOS, G. M.; WENNERSTEN, C.; ZIGHLBOIM-DAUM, S.; REISZNER, E.; GOLDMANN, D.; MOELLERING JR, R. C. – High-level resistance to gentamicin in clinical isolates of *Streptococcus (Enterococcus) faecium*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 32: 1528-5, 1988.

ELIOPOULOS, G. M. Quinupristin-Dalfopristina, Linezolid: evidence and opinion. *Clin. Infect. Dis.*, 36:473-81, 2003.

EMORI, T. G. & GAYNESS, R. P. – An overview of nosocomial infections, including the role of the microbiology laboratory. *Clin. Microbiol. Rev.*, 6: 428-42, 1993.

EVANS, A. C. & CHIN, A. L. – The enterococci: with special reference to their association with human disease. *J. Bacteriol.*, 54: 495-512, 1947.

FAKLAM, R. R. – Recognition of group D streptococcal species of human origin by biochemical and physiological tests. *Appl. Microbiol.*, 23: 1131-9, 1972.

FAKLAM, R. R. - Streptococci and aerococci. In: LENETTE, E.H.; BALOWS, A.; HAUSLER JR, W.J.; TRUANT, J.P. (ed). *Manual of Clinical Microbiology*, 3rd. American Society for Microbiology, Washington, 1980; p.88-110.

FAKLAM, R. R. & CAREY, R. B. – Streptococci and aerococci. In: LENETTE, E.H.; BALOWS, A.; HAUSLER JR, W.J.; SHADOMY, H.J. (ed). *Manual of Clinical Microbiology*, 4th. American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1985; p. 154-75.



- FACKLAM, R. R. & COLLINS, M. D. – Identification of *Enterococcus* species isolated from human infections by a conventional test scheme. J. Clin. Microbiol., 27: 731-4, 1989.
- FACKLAM, R. R. & SAHM, D. A. - *Enterococcus*. In: MURRAY, P. R.; BARON, E. J.; PFALLER, M. A.; TENOVER, F. C.; YOLKEN, R. H. (ed). – Manual of Clinical Microbiology. 6th ed. Washington, American Society for Microbiology 1995; p.308-14.
- FACKLAM, R. R.; HOLLIS, D.; COLLINS, M. D. – Identification of gram-positive coccal and coccobacillary vancomycin-resistant bacteria. J. Clin. Microbiol., 27: 724-30, 1989.
- FACKLAM R. R. & COLLINS, M. D. Identification of *Enterococcus* species isolated from human infections by conventional test scheme. J Clin Microb 1989, 27:731-34.
- FAO/ORG. Exposure assessment of *Salmonella enteritidis* in eggs. www.fao.org/DOCREP/005/Y4392E/y4392e0e.htm acesso 20/03/2006.
- FAO/ORG. Food Safety Risk Profile for *Salmonella* species in broiler (young) chickens. CCFH Working Group on Guidelines for control of *Campylobacter* and *Salmonella* spp. 06/2007
- FDA (U.S. Food and Drug Administration) – A proposed framework for evaluating and assuring the human safety of the microbial effects of antimicrobial new animal drugs intended for use in food-producing animals.
- FDA (U.S. Food and Drug Administration) – A public health action plan to combat antimicrobial resistance, 2000.
- FDA (U.S. Food and Drug Administration) – Enrofloxacin for poultry; opportunity for hearing, 2000.
- FDA (U.S. Food and Drug Administration) – Risk assessment of the public health impact of *Streptogramin* resistance in *Enterococcus faecium* attributable to the use of Streptogramins in animals, 2000.
- FERNANDES, A. T. Infecção hospitalar e suas interfaces na área da saúde. 1ª. edição. São Paulo, Ed. Atheneu, 2000.
- Ferreira, A.P. & Astolfi-Ferreira, C.S. Medidas inespecíficas para o controle bacteriano VII Simpósio Brasil Sul de Avicultura. 04 a 06 de abril de 2006. Chapecó- SC – Brasil.
- FINES, M.; PERICHON, B.; REYNOLDS, P.; SAHM, D. F.; COUVARLIN, P. – VanE, a new type of acquired glycopeptide resistance in *Enterococcus faecalis* BM4405. Antimicrob. Agents Chemother., 43: 2161-4, 1999.
- Fluit A.C. Towards more virulent and antibiotic-resistant *Salmonella*? FEMS Immunol. Med. Microbiol. v. 43, p.1-11. 2005.
- FLUIT, A. C.; VISSER, M. R.; SCHMITZ, F. J. Molecular detection of antimicrobial resistance. Clin. Microbiol. Rev. 14:836-71, 2001.
- FONSECA, E. L. Caracterização dos perfis de resistência a antimicrobianos e diversidade genômica em cepas de *Salmonella* Infantis isoladas no Brasil de 1994 a 2001. Dissertação Mestrado/IOC. 86 p.2003.
- FONSECA, E.L., MYKYTCZUK, O.L., ASENSI, M.D., REIS, E.M.F., FERRAZ, L.R., PAULA, F.L., NG, L.K. & RODRIGUES, D.P. Clonality and antimicrobial Resistance gene profiles of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovar Infantis from four public hospitals in Rio de Janeiro, Brazil. J. Clin. Microbiol. v. 44, p. 2767-2772. 2006.
- FONTANA, R. – Penicillin-binding proteins and intrinsic resistance of β -lactamas in gram-positive cocci. J. Antimicrob. Chemother., 16: 412-6, 1985.
- FONTANA, R.; LIGOZZI, M.; PITTALUGA, F.; SATTI, G. – Intrinsic penicillin resistance in enterococci. Microbiol. Drug Resist., 2: 209-13, 1994.
- FORSYTHE, S.J. Microbiologia da Segurança Alimentar. Porto Alegre. Artmed. 424 p. 2002
- FOULQUIÉ MORENO, M. R., SARANTINOPOULOS, P., TSAKLIDOU, E., DE VUYST, L., 2006. The role and application of enterococci in food and health. International Journal of food Microbiology, 106, 1-24p.



FRANCO, B. D. G. M. & LANGRAF, M. Microrganismo patogênicos de importância em alimentos. In: Microbiologia dos Alimentos, ed. Atheneu, p.33-83, 1996.

FRANCO, B. D. G. M. Microbiologia dos Alimentos, 2^o edição – São Paulo: Editora Atheneu, 2003.

FRANZ, C. M., MUSCHOLL, S., YOUSIF, N. M. K., VANCANNEYT, M., SWINGS, J., HOLZAPFEL, W. 2001, Incidence of virulence factors and antibiotic resistance among enterococci isolated from food. Applied and environmental microbiology. 67, 4385-4389.

FRIEDEN, T. R.; MUNSIFF, S. S.; LOW, D. E.; WILLEY, B. M.; WILLIAMS, G.; FAUR, Y., EISNER, W.; WARREN, S., KREISWIRTH, B. - Emergence of vancomycin-resistant enterococci in New York City. Lancet, 342: 76-9, 1993.

FUZHARA ,T.O., FERNANDES, A.F. & FRANCO, B.D.G.M. Prevalence and dissemination of *Salmonella* serotypes along the slaughtering process in Brazilian small poultry slaughterhouses. J. Food Protect. v. 63, p.1749-1753. 2000.

GAST R.K. & HOLT P.S., Experimental horizontal transmission of *Salmonella* Enteritidis strains (phage types 4, 8, and 13^a) in chicks. Avian Dis. v. 43, p. 774–778. 1998.

GEIMBA, M.P., TONDO, E.C. & BRANDELLI, A. Antimicrobial resistance in *Salmonella* Enteritidis isolated from foods involved in human foodborne outbreaks that occurred in the south of Brasil, 1999-2000. J. Food Safety. v.25, p. 173-182. 2005.

GEORGE, R. C. & UTTLEY, A. H. C. – Susceptibility of enterococci and epidemiology of enterococcal infection in the 1980s. Epidem. Infect., 103: 403-13, 1989.

GIRAFFA, G. 2002. Enterococci from food. FEMS Microbiology. Review. 26., 163-171.

GONÇALVES, P.M.R., FRANCO, R.M. & ZAMBORLINI, L.C. Enumeração de enterococos e coliformes fecais, pesquisa de *Salmonella* e indicação presuntiva de *Proteus*, em cortes e miúdos de frangos (*Gallus domesticus*) congelados. Hig. Alim., São Paulo, v.12, p.42-47. 1998.

GRAY, J. W.; STEWART, D.; PEDDLER, S. J. – Species identification and antibiotic susceptibility testing of enterococci isolated from hospitalized patients. Antimicrob. Agents Chemother., 35: 1943-5, 1991.

GROSS, P. A.; HARVAKY, L.M.; BARDEN, G. E.; FLOWER, M. F. – The epidemiology of nosocomial enterococcal urinary tract infection. Am. J. Med. Sci. , 272: 75-81, 1976.

GUIMARÃES, A.G. LEITE, C.C, TEIXEIRA, L.D.S., SANT'ANNA, M.E.B. & ASSIS, P.N. Detecção de *Salmonella* spp. em alimentos e manipuladores envolvidos em um surto de infecção alimentar. Rev. Bras. Saúde Prod. Animal 2: 1-4. 2001.

GULBERG, R. M.; HOMANN, S. R.; PHAIR, J. P. – Enterococcal bacteremia: analysis of 75 episodes. Rev. Infect. Dis., 11: 74-85, 1989.

HALL, L. M. C.; DUKE, B.; URWIN, G.; GUINEY, M. - Epidemiology of *Enterococcus faecalis* urinary tract infection in a teaching hospital in London, United Kingdom. J. Clin. Microbiol., 30: 1953-7, 1992.

HASMAN, H., MEVIUS, D., VELDMAN, K., OLESEN, I. & AARESTRUP, F.M. β -lactamases among extended-spectrum β -lactamase (ESBL) resistant *Salmonella* from poultry, poultry products and human patients in the Netherlands. J. Antim. Chemother. 56:115-21. 2005

HERMAN, D. J. & GERDING, D. N. – Screening and treatment of infections caused by resistant enterococci. ANTIMICROB. AGENTS CHEMOTHER., 35: 215-9, 1991.

HILBERT, F. MAYRHOFER, S. PAULSEN, P. SMULDER, F. Coexistence of antimicrobial resistant *Salmonella* and *E.coli* in food. ASM Salmonella conference: Pathogenesis, Epidemiology, and Vaccine Development. 2004.

HOFER, E., SILVA F^o, S.J. & REIS, E.M.F. Prevalência de sorovares de *Salmonella* isolados de aves no Brasil. Pesq. Vet. Bras. v.17, p. 55-62. 1997.



- HOFFER, E., SILVA F^o, S.J. & REIS, E.M.F. Sorovares de *Salmonella* isolados de matérias-primas e de ração para aves no Brasil. Pesq. Vet. Bras. 18: 21-27. 1998.
- HOFFMANN, S. A. & MOELERING JR, R. C. – The enterococcus: “Putting the bug in our ears”. Ann. Intern. Med., 106: 757-61, 1987.
- HOFFMANN F.L., MANSOR, A. P., COELHO, A. R.& VINTURIM, T. M. Microbiologia de carcaças e carnes mecanicamente separadas (CMS), obtidas em abatedouro de aves da Região de São José do Rio Preto, SP. Hig. Alim., São Paulo, v. 16, p.92-93. 2002.
- HORODNICEANU, T.; BOUGUELERET, L.; EL-SOLH, N.; BIETH, G.; DELBOS, F. – High-level, plasmid-borne resistance to gentamicin in *Streptococcus faecalis* subsp. *zymogenes*. Antimicrob. Agents Chemother., 16: 686-9, 1979.
- HOSZOWSKI, A & WASYL, D. Epidemiological importance of feed, animal and food of animal origin as a source of Salmonella in Poland in 2004. 13th International Symposium Salmonella and Salmonellosis. pg 405-406.10-12/05/2006.
- HUMPHREY, T.J. Contamination of egg shell and contents with *Salmonella* Enteritidis: a review, Int. J. Food Microbiol. 21, p. 31– 40. 1994
- IBGE/DPE/DEAGRO. <http://www.ibge.gov.br/ibge/estatistica/indicadores/agropecuaria/producao.../default.sht> 18/12/2000.
- IKE, Y. *et al.* Vancomycin-resistant enterococci in imported chickens in Japan. Lancet 1999, 353:1854.
- JETT, B. D.; HUYCKE, M. M.; GILMORE, M. S. – Virulence of enterococci. Clin. Microbiol. Rev., 7: 462-78, 1994.
- JOHNSON, A. P.; UTTLEY, A. H. C.; WOODFORD, N.; *et al.* – Resistance to vancomycin and teicoplanin: an emerging clinical problem. Clin. Microbiol. Rev., 3:280-91, 1990.
- JONES, R. N. & SADER, H. S. – The clinical impact of enterococcal resistance. Challenges Infect. Dis., 1: 1-6, 1993.
- JONES, R. N.; SADER, H. S.; ERWIN, M. E.; ANDERSON, S. C.; The *enterococcus* study group. – Emerging multiplies resistant enterococci among clinical isolates: I. Prevalence data from 97 medical center surveillance study in the United States. Diagn. Microbiol. Infect. Dis., 21: 85-93, 1995.
- KHAKHRIA, R., WOODWARD, W.M., JOHNSON, W.M. & POPPE, C. *Salmonella* isolated from humans, animals and other sources in Canada, 1983-92. Epidemiol. Infect. v. 119, p.15-23. 1997.
- KAPLAN, A. H.; GILLIGAN, P. H.; FACKLAM, R. R. – Recovery of resistant enterococci during vancomycin prophylaxis. J. Clin. Microbiol., 26: 1216-8, 1988.
- KAYE, D. – Enterococci: Biologic and epidemiologic characteristics and in vitro susceptibility. Arch. Intern. Med., 142: 2006-9, 1982.
- KIRK, M. *et al.* Isolation of vancomycin-resistant enterococci from supermarket poultry. Advances in Experimental Medicine and Biology 1997, 418:289-291.
- KJERULF, A.; PALLESEN, L.; WESTH, H. – Vancomycin-resistant enterococci at a large university hospital in Denmark. A.P.M.I.S., 104: 475-9, 1996.
- KONEMAM, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDA, W. M.; SCHERECKENBERGER, P. C.; WINN JR., W. C. Color Atlas and Text Book of Diagnostic Microbiology. 5th ed. Lippincott: Philadelphia, 1997, p.1395.
- KROGSTAD, D. J. & PARQUETTE, A. R. – Defective killing of enterococci: a common property of antimicrobial agents acting on the cell wall. Antimicrob. Agents Chemother., 17: 965-8, 1980.
- KURRIE, E.; BHADURI, S.; KRIEGER, D.; GAUS, W.; HEIMPEL, H.; PFLIEGER, H.; ARNOLD, R.; VANEK, E. – Risk factors for infections of oropharynx and the respiratory tract in patients with acute leukemia. J. Infect. Dis., 144: 128-136, 1981.



- LAI, K. K. – Treatment of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* infections. Arch. Inter. Med., 156: 2579-84, 1996.
- LANCEFIELD, R. C. A serological differentiation of human and other groups of *beta*-hemolytic streptococci. J Exp Med 1933, 57:571-95.
- LANGSTON, C. W.; GUTIERREZ, J.; BOUMA, C. – Motile enterococci (*Streptococcus faecium* var. *mobilis* var. N.) isolated from grass silage. J. Bacteriol., 80: 714-8, 1960.
- LARKIN, C.; POPPE, C.; MCNAB, B.; MCEWEN, B.; MAHDI, A. & ODUMERU, J. Antibiotic resistance of *Salmonella* isolated from hog, beef, and chicken carcass samples from provincially inspected abattoirs in Ontario. J Food Prot. v.67, p.448-55. 2004.
- LAX, A.J., BARROW, P.A., JONES, P.W. & WALLIS, T.S. Current perspectives in salmonellosis. Review. Br. Vet. J. v.151, p. 351 – 377. 1995.
- LÁZARO, N. S., TIBANA, A. , REIS, E.M.F., RODRIGUES, D. P. , QUINTAES, B R ; HOFER, E. Padrão de suscetibilidade a antimicrobianos e perfil plasmidial em *Salmonella* Muenster isoladas de suínos e do ambiente de abatedouros. Pesquisa Veterinária Brasileira, Rio de Janeiro, v. 24, p. 65-70, 2004b.
- LÁZARO, N. S., TIBANA, A. , REIS, E.M.F, VIANNI, M.C.E. & HOFER, E. Resistência a antimicrobianos em sorovares de *Salmonella* isolados de suínos abatidos no Estado do Rio de Janeiro. Revista Brasileira de Medicina Veterinária, Rio de Janeiro, v. 25, p. 14-18, 2003.
- LEBLANC, D. J.; LEE, L. N.; TITMAS, B. M.: SMITH, C. J.; TENOVER, F. D. Nucleotide sequence analysis of tetracycline resistance gene tetO from *Streptococcus mutans* DL5. J. Bacteriol. 170:3618-26, 1988.
- LECLERCQ, R. & COUVARLIN, P. – Resistance to glycopeptides in enterococci. Clin. Infect. Dis., 24: 545-6, 1997.
- LECLERCQ, R.; DERLOT, E.; DUVAL, J.; COUVARLIN, P. - Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium*. N. Engl. J. Med., 319: 157-61, 1988.
- LECLERCQ, R.; DUTKA-MALEN, S.; BRISSO-NOËL, A.; MOLINAS, C.; DERLOT, E.; ARTHUR, M.; DUVAL, J.; COUVARLIN, P. – Resistance of enterococci to aminoglycosides and glycopeptides. Clin. Infect. Dis.; 15: 495-501, 1992.
- LETELLIER, A., ARSENAULD, J., QUESSY, S. & BOULIANNE, M. Prevalence and risk factors for *Salmonella* spp. Carcass contamination in broiler chicken and turkey flocks slaughtered in Quebec, Canada. 13th International Symposium Salmonella and Salmonellosis. pg 429-431.10-12/05/2006.
- LIBBY, S.J., LESNICK, M., HASEGAWA, P., WEIDENHAMMER, E. & GUINEY, D.G. The *Salmonella* virulence plasmid *spv* genes are required for cytopathology in human monocyte-derived macrophages. Cell. Microbiol.v. 2, p.49-58. 2000.
- LOGUE, C.M.; SHERWOOD, J.S.; OLAH, P.A.; ELIJAH, L.M. & DOCKTER, M.R. The incidence of antimicrobial-resistant *Salmonella* spp. on freshly processed poultry from US Midwestern processing plants. J. Appl. Microbiol. v.94, p.16–24. 2003.
- LOPES B.,PINHO, J., PEREIRA,J.,GASPAR,L., SILVA,P.& DI FILIPO,R. Antibióticos, probióticos e promotores de crescimento na criação de aves. UFB/EMV. 73p. 2006
- LÓPEZ, H.S. & OLVERA, L.G. Problemática del uso de enrofloxacin en la avicultura en México. Vet. Méx. v.31, p.137-145. 2000.
- MACHADO, R. A., TOSIN, I. & LEITÃO, M. F. F. Occurrence of *Salmonella* sp and *Campylobacter* sp in chickens during industrial processing. Rev. Microbiol., São Paulo, v.4, p.239-244. 1994.
- MALONE, D. A.; WAGNER, R. A.; MYERS, J. P.; WATANAKUNAKORN, C. – Enterococcal bacteremia in two large community teaching hospitals. Am. J. Med., 81: 601-6, 1986.
- MANDELL, G. L.; KAYE, D.; LEVISON, M. E.; HOOK, E. W. – Enterococcal endocarditis: an analysis of 38 patients observed at the New York Hospital-Cornell Medical Center. Arch. Intern. Med., 125: 258-64, 1970.
- MANSUY, J.M. & SCHLEGEL, L. Salmonellosis in Martinique: results of a twenty-five years survey. In: *Salmonella* and Salmonellosis Proceedings. Zoopôle. Ploufragan. v. 20/22, p.583-586. 1997.



- MARTIN, L, POPPE, C., WEIR, E., BOERLIN, P, MUCKLE, A. Occurrence and characterization of extended spectrum cephalosporin resistance in Salmonella during 1999-2004. ASM Conference. 9-13/9/06. Victoria, CN A-70 pg 73, 2006.
- MARTINS, S. C. S. *et al.* *Salmonella* sp. em miúdos de aves: resistência a antibióticos. Revista higiene Alimentar 2000 14 (78, 79): 74-76.
- MATHEUS, D.P.; RUDGE, A.C.& GOMES, S.M.M - Ocorrência de *Salmonella* spp em carne de frango comercializada em Bauru, SP, Brasil. Rev. Inst. Adolfo Lutz, v. 62, p. 111 - 115, 2003.
- McDERMOTT, P. F., WALKER, R. D. & WHITE, D. G.. Antimicrobials: modes of action and mechanisms of resistance. Int. J. Toxicol. v. 22, p.135-143. 2003
- McDONALD, L. C.; KUERHNERT, M. J.; TENOVER, F. C.; JARVIS, R. W.; CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION - Vancomycin-resistant enterococci outside the health-care setting: prevalence, sources, and public health implications. Emerg. Infect. Dis., 3: 311-7,1997.
- McDONALD, L. C. *et al.* Vancomycin-resistant *Enterococci* outside the health-care setting: prevalence, sources, and public health implications. Emerging Infect Dis 1997, 3(3): 311-7.
- Mc KESSAR, S. J.; BERRY, A. M.; BELL, J. M.; TURNIDGE, J. D.; PANTON, J. C. Genetic characterization of *vanG*, a novel vancomycin resistance locus of *Enterococcus faecalis*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 44: 3224-28, 2000.
- MELHUS, A. & TJERNBERG, I. – First documented isolation of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in Sweden. Scand. J. Infect. Dis., 28: 191-3, 1996.
- Métodos de Análise Microbiológica para Alimentos. Ministério da Agricultura e do Abastecimento – Brasília - Distrito Federal. 1991/1992 –2º revisão.
- MIKOLAJCZYK, A. & RADKOWSKI, M. Salmonella spp on chicken carcasses in processing plants in Poland. J. Food Prot. v. 65, p. 1475-1479. 2002.
- MIRANDA, A. G.; SINGH, K. V.; MURRAY, B. E. – DNA fingerprinting of *Enterococcus faecium* by pulsed-field gel eletrophoresis may be a useful epidemiologic toll. J. Clin. Microbiol., 29: 2752-7, 1991.
- MOELLERING JR, R. C. - Emergence of *Enterococcus* as a significant pathogen. Clin. Infect. Dis., 14: 1173-8, 1992.
- MOELLERING JR, R. C. – The *Enterococcus*: a classic example of the impact of antimicrobial resistance on therapeutic potions. J. Antimicrob. Chemother., 28: 1-12, 1991.
- MOELLERING, R. C. *Enterococcus specie, streptococcus bovis* and *leuconostoc specie*. In Mandell, GL et al. Principles and practice of infectious diseases. 4th ed. Churchill Livingstone, New York, 1995, p. 1826-1835.
- MOELLERING JR, R. C.; KORZENIOWSKI, O.M.; SANDE, M.A.; WENNERSTEN, C.B. – Species-specific resistance to antimicrobial synergism in *Streptococcus faecium* and *Streptococcus faecalis*. J. Infect. Dis., 140: 203-8, 1979.
- MOELLERING JR, R. C.; WENNERSTEN, C.B.; WEINBERG, A.N. – Studies on antibiotic synergism against enterococci: I. Bacteriologic studies. J. Lab. Clin. Med., 77: 821-8, 1971.
- MOELLERING JR, R. C.; WENNERSTEN, C.B.G.; MEDREKY, T.; WEINBERG, A.N. – Prevalence of high-level resistance to aminoglycosides in clinical isolates of enterococci. Antimicrob. Agents Chemother., 335-40, 1970.
- MONROE, S. & POLK, R. Antimicrobial use and bacterial resistance. Curr. Opin. Microbiol. 3:496-501, 2000.
- MOLBAK, K., BAGGESEN, D. L., AARESTRUP, F. M., EBBESEN, J. M., ENGBERG, J., FRYDENDAHL, K., GERNER-SMIDT, P., PETERSEN, A. M. & WEGENER. H.C. An outbreak of multidrug-resistant, quinolone-resistant *Salmonella enterica* serotype Typhimurium DT104. N. Engl. J. Med. v.341, p.1420-1425. 1999.
- MORRISON, A. J. & WENZEL, R. P. – Nosocomial urinary tract infections due to enterococcus: ten years' experience at a university hospital. Arch. Intern. Med., 146: 1549-51, 1986.



- MULVEY, M.R.; BOYD, D.A.; BAKER, L.; MYKYTCZUK, O.; REIS, E.M.; ASENSI, M.D.; RODRIGUES, D.P. & NG, L.K. Characterization of a *Salmonella enterica* serovar Agona strain harbouring a class 1 integron containing novel OXA-type beta-lactamase (blaOXA-53) and 6'-N-aminoglycoside acetyltransferase genes [aac(6')-130]. *J. Antimicrob. Chemother.* v.54, p.354-359. 2004.
- MUNDT, J. O. & GRAHAM, W. F. – *Streptococcus faecium* var. *casseliflavus* nov. var. *J. Bacteriol.*, 95: 2005-9, 1968.
- MURPHY, T. M., MCNAMARA, E., HILL, M., ROONEY, N., BARRY, J., EGAN, J., O'CONNELL, A., O'LOUGHLIN, J. & MCFADDYEN, S. Epidemiological studies of human and animal *Salmonella typhimurium* DT104 and DT104b isolates in Ireland. *Epidemiol. Infect.* v.126, p.3-9. 2001.
- MURRAY, B. E. – Antibiotic resistance among enterococci: current problems and management strategies. In: REMINGTON, J.S. & SWARTZ, M.N. (ed). *Current clinical topics in infectious diseases*. Boston: Blackwell Scientific Publications, 1991; p.94-117.
- MURRAY, B. E. - Diversity among multidrug-resistant enterococci. *Emerg. Infect. Dis.*, 4: 37-47, 1998.
- MURRAY, B. E. – Problems and dilemmas of antimicrobial resistance. *Pharmacotherapy*, 12: 86-93, 1992.
- MURRAY, B. E. - The life and times of the *Enterococcus*. *Clin. Microbiol. Rev.*, 3: 46-65, 1990.
- MURRAY, B. E. Vancomycin-resistant enterococcal infections. *N Engl J Med* 2000a., 342(10):710-21.
- MURRAY, B. E. Problems and perils of vancomycin resistant enterococci. *Braz J Infect Dis* 2000b, 4(1):9-14.
- MURRAY, B. E. & MEDERSKI-SAMARÓJ, B. – Transferable β -lactamase: a new mechanism for in vitro penicillin resistance in *Streptococcus faecalis*. *J. Clin. Invest.*, 72: 1168-71, 1983.
- MUSHER, D. M. – *Enterococcus* species and group D streptococci. In: MANDELL, G.L.; DOUGLAS JR, R.G.; BENNETT, J.E. (ed). *Principles and practice of infectious diseases*. New York: Churchill Livingstone, 1990; p.1550-4.
- MUSHER, D. M. *Streptococcus pneumoniae*. In: MANDELL, G. L. *et. al.* *Principles and practice of infectious diseases*. 4th ED. CHURCHIL LIVINGSTONE, NEW YORK, 1995, P. 1811-1826.
- NASCIMENTO V. P., SILVA A.B., SALLE C.T.P., RIBEIRO A.R., SCHUCH D.M.T., SANTOS, L. R., CARDOSO M.O., ROCHA S. L.S. & VIEIRA J. S. Ocorrência de *Salmonella* sp em carcaças de frango industrialmente processadas. In: VI Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, Curitiba. Anais da VI Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, p. 81. 1996.
- NAVARRO, F. & COUVARLIN, P. – Analysis of genes encoding D-alanine-D-alanine ligase related enzymes in *Enterococcus casseliflavus* and *Enterococcus flavescens*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 38: 1788-93, 1994.
- NAUTA, M. J., VAN DE GIESSEN, A. W. & HENKEN, A. M. A model form evaluating intervention strategies to control *Salmonella* in the poultry meat production chain. *Epidemiol. Infect.* 2000, 124(3): 365-73.
- NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. NCCLS M100 –A11– V23, 2003.
- NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. NCCLS M 31^A, 1999.
- NETO, J.P. Resíduos de antimicrobianos em alimentos. *Revista Conselho Federal de Medicina Veterinária – Brasília/DF*. Ano VII nº 22. 65 – 71. 2001.
- O'BRIEN, T.F. Emergence, spread, and environmental effect of antimicrobial resistance: how use of an antimicrobial anywhere can increase resistance to any antimicrobial anywhere else. *Clin. Infect. Dis.* v.34, p. S78-S84. 2002.
- OIE (Organização Internacional de Epizootias) – Risk analysis methodology for the potential impact on public health of antimicrobial resistant bacteria of animal origin, 2000.
- OIE (Organização Internacional de Epizootias) – The role of international trade in animals, animal products and feed in the spread of transferable antibiotic resistance and possible methods for control of the spread of infectious agent resistance factors, 1998.



OLIVEIRA, S.D., RODENBUSCH, C.R., MICHAEL, G.B., CARDOSO, M.I.R., CANAL, C.W. & BRANDELLI, A. Detection of virulence genes in *Salmonella* Enteritidis isolated from different sources. *Braz. J. Microbiol.*, vol. 34, p 123-124. 2003.

OMS/Organización Mundial de la Salud. Control de la salmonelosis: importancia de la higiene veterinaria y de los productos de origen animal. *Série de Informes Técnicos*, n. 774. 1988.

OSTROWSKY, B. E.; VENKATARAMAN, L.; D'AGATA, E. M. C.; GOLD, H. S.; DeGIROLAMI, P. C.; SAMORE, M. H. – Vancomycin-resistant enterococci in intensive care units. *Arch. Intern. Med.*, 159: 1467-72, 1999.

PALERMO-NETO, J. & TITZE-DE-ALMEIDA, R. Antimicrobianos como aditivos em animais de produção. In: *Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária*, 3.ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 2002.

PATEL, R. *et al.* Multiplex PCR Detection of van A, van B, van C-1, and van C-2/3 genes in Enterococci. *J Clin Microbiol* 1996, 36(3): 703-7.

PEIRANO, G. ; AGERSO, Y. ; AARESTRUP, F. M. ; REIS, E. M. F. ; RODRIGUES, D. P. . Occurrence of integrons and antimicrobial resistance genes among *Salmonella enterica* from Brazil. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v. 58, p. 305-309, 2006.

PERICHON, B.; REYNOLDS, P.; COUVARLIN, P. – VanD type glycopeptide-resistant *Enterococcus faecium* BM4339. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 41: 2016-8, 1997.

PINTO, P. S. A. Aspectos sanitários da Salmonelose como uma zoonose. *Revista Higiene Alimentar* 2000, 14(71):32-33.

POPOFF, M.Y. & LE MINOR, L. - Antigenic formulas of the *Salmonella* serovars. 8th revision. WHO Collaborative Centre for Reference and Research on *Salmonella*. Paris, Institut Pasteur, 2001.

POPPE, C. *Salmonella* infections in the domestic fowl. In: WRAY, C. & WRAY, A. (eds). *Salmonella in Domestic Animals*. New York, NY: CAB International. pp. 107–132. 2000.

QUINTILIANI JR, R.; EVERS, S.; COUVARLIN, P. – The *vanB* gene confers various levels of self-transferable resistance to vancomycin enterococci. *J. Infect. Dis.*, 167: 1220, 1993.

RABSCH, W.; TSCHAPE, H. & BAUMLER, A.J. Non-typhoid salmonellosis: emerging problems. *Microbes and Infection*; 3, p. 237-247. 2001

REINER, N. E.; GOPALAKRISHNA, K. V.; LERNER, P. I. – Enterococcal endocarditis in heroin addicts. *JAMA*, 235: 1861-3, 1970.

REIS, E.M.F. Análise de marcadores epidemiológicos de *Salmonella* Enteritidis, oriundas de diferentes fontes de infecção e de regiões do país. Dissertação [Mestrado]. UFRRJ. 1994.

RELATÓRIO Anual de Atividades de Monitoramento da Resistência Antimicrobiana em Enteropatógenos. CGLAB/DEVEP/ SVS. 2000-2006.

RIBOT, E.M.; WIERZBA, R.K.; ANGULO, F.J. & BARRETT, T.J. *Salmonella enterica* serotype Typhimurium DT104 isolated from humans, United States, 1985, 1990, and 1995. *Emerg. Infect. Dis.*, v. 8, p. 387-391. 2002.

RICE, E. W.; MESSER, J. W.; JOHNSON, C. H.; REASONER, D. J. Occurrence of high-level aminoglycoside resistance in environmental isolates of enterococci. *Appl. Environ. Microbiol.*, 61: 374-6, 1995.

ROBREDO B. *et al.* Vancomycin-resistant enterococci isolated from animals and food. *Int. J. Food Microb.*, 2000, 54:197-204.

RODRIGUES, D. P. Bacterial Resistance to Antimicrobial Drugs. Surveillance and the example of national programs: Brazil. In: *Antimicrobial resistance in the Americas: magnitude and containment of the problem*. Ed. Roxane Salvatierra-González and Yehuda Benguigui. Washington DC. PAHO/HCP/HCT/163/2001. p. 184-192.

RODRIGUES, D.P. Relatórios Anuais do Laboratório de Referência Nacional - Laboratório de Enterobactérias/IOC/FIOCRUZ, CGLAB/DEVEP/ SVS. 2000-2006.



- ROTGER, R. & CASADESÚS, J. The virulence plasmids of *Salmonella*. Intern. Microbiol 2: 177-184. 1999.
- RUPALI, P., ABRAHAM, O. C.; JESUDASON, M. V.; JOHN, T. J.; ZACHARIAH, A.; SIVARAM, S.; AND MATHAI, D. Treatment failure in typhoid fever with ciprofloxacin susceptible *Salmonella enterica* Serotype Typhi. Diagn Microbiol. Infect. Dis. 49:1-3. 2004.
- SAJID, S.U. Antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* subsp.*enterica* serovars Albany and Enteritidis isolates from Pakistan. *Salmonella: from pathogenesis to therapeutics*. ASM Conference. Victoria, CN 9-13,C-36 pg 55, 2006.
- SALLES M.A.F, SILVA P.K.S., FONSECA V.R.S., CARNEIRO A.L., BRANCO F.R., SILVA P.L.; ALVES N. F., & CUNHA A.P. Pesquisa de *Salmonella* sp através de provas de triagem rápida e convencional, em carcaças de frangos abatidos no município de Uberlândia, MG. Hig. Alim., São Paulo, v. 16, p. 36-40. 2002.
- SANTOS, D.M.S., BERCHIERI, JR A., FERNANDES, S.A., TAVECHIO, A. T. & AMARAL, L. A. *Salmonella* em carcaças de frango congeladas. Pesq. Vet. Bras. v. 20, p.39-42. 2000.
- SAPICO, F. L.; CANAWATI, H. N.; GNUNAS, V. J.; GILMORE, D. S.; MONTGOMERIE, J. Z.; TUDDENHAM, W. J.; FACKLAM, R. R. – Enterococci highly resistant to penicillin and ampicillin: an emerging clinical problem? J. Clin. Microbiol., 27: 2091-5, 1989.
- SCHABERG, D. R.; CULVER, D. H.; GAYNESS, R. P. – Major trends in the microbial etiology of nosocomial infection. Am. J. Med., 91 (suppl. 3B): 72-5, 1991.
- SCHROETER, A.; HOOG, B. & HELMUTH, R. Resistance of *Salmonella* Isolates in Germany. J. Vet. Med. v.51, p.389–392. 2004.
- SCHWALBE, R. S. *et al.* Isolation of vancomycin-resistant enterococci from animal feed in USA. Lancet 1999, 353:722. Schlosser W *et al.* Analysis of *Salmonella* serotypes from selected carcasses and raw ground products sampled prior to implementation of the pathogen reduction; Hazard analysis and critical control point final rule in the US. Int. J. Food Microbiol 2000, 58(1-2):107-11.
- SCHLEIFER, K. H. – Gram-positive cocci. In: SNEATH, H.A.; MAIR, N.S.; SHARPE, M.E.; HOLT, J.G. (ed), Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 2. The Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1984, p. 999-1103.
- SCHLEIFER, K. H. & KILPPER-BÄLZ, R. – Transfer of *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* to the genus *Enterococcus* nom. rev. as *Enterococcus faecalis* comb. nov. and *Enterococcus faecium* comb. nov. Int. J. Syst. Bacteriol., 34: 31-4, 1984.
- SEKI, L.M. Estudo retrospectivo da resistência antimicrobiana em *Salmonella* isoladas de aves industrializadas em diferentes regiões do país. Dissertação [Mestrado]. UFRRJ. 2000.
- SHERMAN, J. M. – The streptococci. Bacteriol. Rev., 1: 3-97, 1937.
- SHLAES, D. M. & BINCEWSKI, B. - Enterococcal resistance to vancomycin and related cyclic glycopeptide antibiotics. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 9: 106-10, 1990.
- SHLAES, D. M.; LEVY, J.; WOLINSKY, E. – Enterococcal bacteremia without endocarditis. Arch. Intern. Med., 141: 578-81, 1981.
- SILVA, M. C. Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos com a utilização de metodologias convencionais e do sistema simplate. 2002. Dissertação - Mestrado em Ciências – Escola Superior de Agricultura, Universidade de São Paulo, 2002, Piracicaba.
- SILVA J.A., AZEREDO G.A, BARROS, C.M.R, COSTA, E.L. & FALCÃO, M.S. Incidência de bactérias patogênicas em carne de frango refrigerada. Hig. Alim., São Paulo, v. 16, p.97- 101. 2002.
- SMYTH, C. J.; DOCENT, M. A.; HALPENNY, M. K.; BALLAGH, J. – Carriage rates of enterococci in the dental plaque of hemodialysis patients in Dublin. Br. J. Oral Maxillofacial Surg., 25: 21-33, 1987.
- SMYTH, E. G.; STEVENS, P. J.; HOLLIMAN, R. E. – Prevalence and susceptibility of highly gentamicin resistant *Enterococcus faecalis* in a South London teaching hospital. J. Antimicrob. Chemother., 23: 633-9, 1989.



STANDIFORD, H. D.; deMAINE, J. B.; KIRBY, M. M. – Antibiotic synergism of enterococci. Relation to inhibitory concentrations. Arch. Intern. Med., 126: 255-9, 1970.

TAVARES, W. Manual de Antibióticos e Quimioterápicos. 2nd ed. São Paulo: Atheneu, 1996, p. 792.

TAVECHIO, A. T.; FERNANDES, S.S.; NEVES, B.C.; DIAS, A.M.G. & IRINO, K. Changing patterns of *Salmonella* serovars: increase of *Salmonella* Enteridis in São Paulo, Brazil. Rev. Inst. Med. Trop. v. 38, p.315-322. 1996.

TEIXEIRA, L. M. & FACKLAM, R. R. *Enterococcus*. In: Manual of Clinical Microbiology. Ed. MURRAY, P.R.; BARON, E. J.; JORGENSEN, J.H.; PFALLER, M.A.; YOLKEN, R. H. 8th edition. ASM Press, Washington, D.C., 2003. p. 623-635.

TESSARI, E.N.C.; CARDOSO, A.L.S.P; CASTRO, A.G.M.; ZANATTA, G.F.; KANASHIRO, A.M.I. Incidência de *Salmonella* spp. em pintos de corte recém-nascidos. Arq. Inst. Biol. v. 70, p. 279-281. 2003.

THRELFALL, E.J. Epidemic *Salmonella* typhimurium DT 104--a truly international multiresistant clone. J Antimicrob Chemother. v.46, p. 7-10. 2000

TIROLI, I.C.C. & COSTA, C.A. Ocorrência de *Salmonella* spp. em carcaças de frangos recém abatidos em feiras e mercados da cidade de Manaus-AM. Acta Amaz. Manaus. v..36, p. 2006

TITZE-DE-ALMEIDA, R. & PALERMO-NETO, J.: Uso de antimicrobianos em Avicultura e o desenvolvimento de resistência bacteriana. In: PALERMO-NETO, J.; SPINOSA, S.L. & GÓRNIK, S.L.: Farmacologia Aplicada à Avicultura. 1^a Ed. Roca editora, São Paulo, p. 161- 173, 2005.

UYTTENDAELE, M.; DE TROY, P.; DEBEVERE, J. Incidence of *Salmonella*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, and *Listeria monocytogenes* in poultry carcasses and different types of poultry products for sale on the Belgian retail market. J. Food Prot. v. 62, p.735-740. 1999.

UTTLEY, A. H. C.; COLLINS, C. H.; NAIDO, J.; GEORGE, R. C. - Vancomycin-resistant enterococci. Lancet, I: 57-8, 1988.

UTTLEY, A.H.C.; GEORGE, R.C; NAIDOO, J.; *et al.* – High-level vancomycin-resistant enterococci causing hospital infections. Epidem. Infect., 103: 173-81, 1989.

VARMA, J.K.; MOLBAK, K.; BARRETT, T.J.; BEEBE, J.L.; JONES, T.F.; RABATSKY-HER, T.; SMITH, K.E.; VUGIA, D.J.; CHANG, H.G. & ANGULO, F.J. Antimicrobial-resistant nontyphoidal *Salmonella* is associated with excess bloodstream infections and hospitalizations. J. Infect. Dis. v. 191, p. 554-61. 2005.

VELGE, P.; CLOECKAERT, A. & BARROW, P. Emergence of *Salmonella* epidemics: The problems related to *Salmonella enterica* serotype Enteritidis and multiple antibiotic resistance in other major serotypes. Vet. Res. v. 36, p. 267-288. 2005.

WARREN, J. W.; TENNEY, J. H.; HOOPEES, J. M. – A prospective microbiologic study of bacteriuria in patients with chronic indwelling urethral catheters. J. Infect. Dis., 146: 719, 1982.

WALSH, C. Molecular mechanisms that confer antibacterial drug resistance. *Nature*, v. 406, pp. 775-781, 2000.

WHITE, D.G., FEDORKA-CRAY, P. & CHILLER, T.C. The National Antimicrobial Resistance Monitoring System (NARMS). NMC Annual Meeting Proceedings. P. 56-60. 2006.

WHO (World Health Organization) – WHO Global Principles for the containment of antimicrobial resistance in animals intended for food, 2000.

WHO (World Health Organization)- Global strategy for containment of antimicrobial resistance, 2000.

WHO/FAO (2000): Global principles for the containment of antimicrobial resistance in animals intended for food. WHO/CDS/CSR. 4:1-21. 2000.

WHO/FAO. (2001): WHO Global strategy for containment of antimicrobial resistance. WHO/CDS/CSR/DRS/2001-2. p.11-92. 2001.



WHO/World Health Organization. Risks assessments of *Salmonella* in eggs and broiler chickens. Series n°2, Geneva- Switzerland 328p. 2002.

WHO/World Health Organization. The medical impact of the use of antimicrobials in food animals. Report of a WHO Meeting Germany 13-17/10/1997. HO/ECM/ZOO/97.4.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1st Joint FAO/OIE/WHO Expert Workshop on Non-human Antimicrobial Usage and Antimicrobial Resistance: Scientific assessment, Geneva, December 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Drug-resistant Salmonella. Fact sheet N° 139. Revised April 2005.

WILSON, W. R.; WILKOSKE, C. J.; WRIGHT, A. J.; SANDE, M. A.; GERACI, J. E. – Treatment to streptomycin-susceptible and streptomycin-resistant enterococcal endocarditis. *Ann. Intern. Med.*, 100: 816-23, 1984.

WINOKUR, P. L., BRUEGGEMANN, A., DE SALVO, D. L., HOFFMANN, L., APLEY, M. D., UHLENHOPP, E. K., PFALLER, M. A., DOERN, G. V. Animal and human multidrug-resistant, cephalosporin-resistant *Salmonella* isolates expressing a plasmid-mediated CMY-2 AmpC beta-lactamase. *Antimicrob. Agents Chemother.* v. 44, p.2777-2783. 2000.

WOODFORD, N. – Glycopeptide-resistant enterococci: a decade of experience. *J. Med. Microbiol.*, 47: 849-62, 1998.

WOODFORD, N.; ADEBIYI, A-M. A.; PALEPOU, M-F. I.; COOKSON, B. D. – Diversity of VanA glycopeptide resistance elements in enterococci from humans and non humans sources. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 42: 502-8, 1998.

WOODFORD, N.; JOHNSON, A. P.; MORRISON, D.; SPELLER, D. C. E. – Current perspectives on glycopeptide resistance. *Clin. Microbiol. Rev.*, 8: 585-615, 1995.

WRIGHT, G.D. Mechanisms of resistance to antibiotics. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 7:563-569, 2003.

ZANELLA, R. C. *et al.* First confirmed case of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* with vanA phenotype from Brazil: isolation from meningitis case in São Paulo. *Microb Drug Res.*, 1999, 5(2):159-162.

ZANELLA, R. C.; BRANDILEONE, M. C. C.; BOKERMANN, S.; ALMEIDA, S. C.G.; VALDETARO, F.; VITÓRIO, F.; MOREIRA, M. DE F. A.; VILLINS, M.; SALOMÃO, R.; PIGNATARI, A. C. C. Phenotypic and Genotypic Characterization of VanA *Enterococcus* Isolated During the First Nosocomial Outbreak in Brazil. *Microbial Drug Resistance-Mechanisms Epidemiology And Disease, Estados Unidos*, v. 9, n.3, p. 283-291, 2003.

ZERVOS, M. J.; MIKESELL, T. S.; SCHABERG, D. R. – Heterogeneity of plasmids determining high-level resistance to gentamicin in clinical isolates of *Streptococcus faecalis*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 30: 78-81, 1986.

ZHAO, S., MCDERMOTT, P.F., FRIEDMAN, S., ABBOTT, J., AYERS, S., GLENN, A., HALL-ROBINSON, E., HUBERT, S.K., HARBOTTLE, H., WALKER, R.D., CHILLER, T.M. & WHITE, D.G. Antimicrobial resistance and genetic relatedness among *Salmonella* from retail foods of animal origin: NARMS Retail Meat Surveillance. *Foodborne Path. Dis.*, v. 3, p. 106-117. 2006.

ZIMMERMAN, R. A.; MOELLERING JR, R. C.; WEINBERG, A. N. – Mechanism of resistance to antibiotic synergism in enterococci. *J. Bacteriol.*, 105: 873-9, 1971.



	PROCEDIMENTO OPERACIONAL			Data da Revisão:
	Número:	Localizador:	Revisão:	Data para revalidação:
	POP - 001	GICRA/GGALI	0	
Título: Colheita de carcaças congelada de frango				
Descrição da Revisão:		Palavra(s) chave: Salmonella – Frango - Rotulagem		
Elaborador:		Aprovador:		
Gerência de Inspeção e Controle de Riscos de Alimentos		Ana Virgínia de Almeida Figueiredo		
Cargo: Técnicos		Cargo: gerente de Inspeção e Controle de Riscos em Alimentos		

1. OBJETIVO

Determinar procedimentos para colheita de amostras de carcaças congeladas de frango destinadas ao Programa Nacional de Monitoramento da Prevalência e da Resistência Bacteriana em Frango - PREBAF, e para a análise de resultados e intervenção.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO

Este Procedimento Operacional Padrão estabelece os procedimentos a serem observados pelos órgãos de vigilância sanitária dos Estados envolvidos no PREBAF, para a colheita de amostras de carcaças congeladas de frango.

3. PROCEDIMENTOS

3.1 COLHEITA DE AMOSTRAS

3.1.1 Colher, no comércio local, duas amostras, de marcas distintas, compostas por 05 (cinco) unidades de frango inteiro congelado e sem tempero, por mês. A seleção das amostras deve ser baseada na disponibilidade das marcas no mercado, priorizando os produtos processados em frigoríficos locais.

3.1.2 As cinco unidades da amostra devem apresentar as mesmas especificações quanto a marca, ao lote, data de fabricação e prazo de validade. As unidades de amostra não devem apresentar sinais de violação na embalagem primária.

3.1.3 Colher amostras com, no mínimo, 60 dias para expirar a validade. Deve ser dispensada a colheita da amostra sempre que o produto estiver visivelmente adulterado ou deteriorado, ou armazenado em temperatura inadequada.

3.1.4 Para cada amostra deve ser emitido um Termo de Colheita de Amostras (TCA) e especificado o motivo de colheita (PREBAF) e a modalidade de análise (Orientação).

3.1.5 O TCA deve ser preenchido em letra legível, preferencialmente em letra de forma.

3.1.6 Enviar as amostras ao laboratório devidamente identificadas, contendo as seguintes informações:

A data, a hora da colheita, a temperatura do produto e/ou do equipamento; de exposição (gôndola, freezer) no momento da colheita, as condições da amostra no ponto de colheita e outros dados que possam auxiliar as atividades analíticas.

3.1.7 As amostras colhidas devem ser entregues no mesmo dia ao laboratório, devidamente lacradas, sendo mantidas em caixa isotérmica, com gelo reciclável durante o transporte.

As amostras devem permanecer congeladas desde a colheita até a entrega no laboratório.



	PROCEDIMENTO OPERACIONAL			Data da Revisão:
	Número:	Localizador:	Revisão:	Data para revalidação:
	POP - 001	GICRA/GGALI	0	
Título: Colheita de carcaças congelada de frango				
Descrição da Revisão:		Palavra(s) chave: Salmonella – Frango - Rotulagem		
Elaborador:		Aprovador:		
Gerência de Inspeção e Controle de Riscos de Alimentos		Ana Virgínia de Almeida Figueiredo		
Cargo: Técnicos		Cargo: gerente de Inspeção e Controle de Riscos em Alimentos		

3.1.8 Excepcionalmente, quando não for possível entregar as amostras ao laboratório no mesmo dia da colheita, as mesmas devem ser mantidas em freezer garantindo a sua integridade.

3.1.9 O prazo máximo de entrega das amostras (congeladas) ao laboratório não deve exceder a 72 horas após colheita, respeitando os dias previamente acordados no cronograma de amostragem entre o órgão de vigilância sanitária e o laboratório.



Ministério da Saúde				
Fundação Oswaldo Cruz				
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde				
Av. Brasil, 4365 - Manguinhos - CEP 21045-900 - Rio de Janeiro - RJ - Brasil				
Tel: (0xx21) 3865-5151 Fax: (0xx21) 2290-0915				
MANUAL DA QUALIDADE				
TÍTULO: RECEPÇÃO E PROCESSAMENTO INICIAL DE AMOSTRAS DE CARÇAÇAS CONGELADAS DE FRANGO E EMISSÃO DO LAUDO DE ANÁLISE				NÚMERO 65.3210.043
PALAVRAS-CHAVE:			Seção do Manual 10	REVISÃO 01
TÉCNICA DE ENXAGUADURA - CARÇAÇAS DE FRANGO - LAUDOS				
ELABORADO	VERIFICADO	APROVADO	REFERENDADO	DATA
Carla de O. Rosas	Márcia B Warnken	Marise S. de Magalhães	Eduardo Chaves Leal	13/07/2004

SUMÁRIO

1. Objetivo
2. Campo de aplicação
3. Siglas
4. Condições Gerais
5. Condições Específicas
6. Bibliografia
7. Anexos
 - A. Meios de Cultura
 - B. Soluções e Reagentes

1. OBJETIVO

Este Procedimento Operacional Padronizado estabelece condições e procedimentos para a recepção, armazenamento e processamento das amostras a serem submetidas à pesquisa e contagem de *Salmonella* sp e à pesquisa de *Enterococcus* sp. Este POP também padroniza os dados que devem constar nos laudos de análise e destinatário de encaminhamento.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO

Este POP aplica-se ao PREBAF e visa uniformizar as metodologias de análise, bem como a elaboração de laudos a serem encaminhados aos órgãos de Vigilância Sanitária, pelos laboratórios participantes.



	Ministério da Saúde	
	Fundação Oswaldo Cruz	
	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde	
	Av. Brasil, 4365 - Manguinhos - CEP 21045-900 - Rio de Janeiro - RJ - Brasil	
	Tel: (0xx21) 3865-5151 Fax: (0xx21) 2290-0915	
MANUAL DA QUALIDADE		
TÍTULO: RECEPÇÃO E PROCESSAMENTO INICIAL DE AMOSTRAS DE CARÇAÇAS CONGELADAS DE FRANGO E EMISSÃO DO LAUDO DE ANÁLISE		NÚMERO 65.3210.043

3. SIGLAS

São usadas no texto deste POP as seguintes siglas:

PREBAF – Programa Nacional de monitoramento da Prevalência e da Resistência Bacteriana em Frango

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ATCC – American Type Culture Collection

IAL – Instituto Adolfo Lutz

INCQS – Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

4. CONDIÇÕES GERAIS

4.1 – Materiais e equipamentos

- a) balança com capacidade para 3000g e sensibilidade de 0,01g;
- b) bandejas inox
- c) bisturis
- d) bolsa plástica estéril com capacidade de 5 L;
- e) frasco erlenmeyer com capacidade de 5 L ou frasco similar;
- f) papel indicador de pH.

Nota:

Esterilizar os materiais em forno Pasteur a 180 °C durante 2 horas.

4.2 – Meios de cultura (ver Anexo A)

- a) água peptonada tamponada (APT)

4.3 – Soluções e reagentes (ver Anexo B)

- a) ácido clorídrico 1N;
- b) álcool a 70%
- c) hidróxido de sódio 1N;
- d) triton x-100

5. CONDIÇÕES ESPECÍFICAS

Duas amostras de carcaças congeladas de frango sem tempero, compostas cada uma, por cinco



	Ministério da Saúde	
	Fundação Oswaldo Cruz	
	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde	
	Av. Brasil, 4365 - Manguinhos - CEP 21045-900 - Rio de Janeiro - RJ - Brasil	
	Tel: (0xx21) 3865-5151 Fax: (0xx21) 2290-0915	
MANUAL DA QUALIDADE		
TÍTULO: RECEPÇÃO E PROCESSAMENTO INICIAL DE AMOSTRAS DE CARÇAÇAS CONGELADAS DE FRANGO E EMISSÃO DO LAUDO DE ANÁLISE		NÚMERO 65.3210.043

unidades são coletadas mensalmente pela Vigilância Sanitária. As unidades de cada amostra devem pertencer à mesma marca comercial e apresentar a mesma data de embalagem e/ou prazo de validade do produto.

As amostras são acondicionadas, identificadas e enviadas ao laboratório de análise, sob refrigeração, no menor período de tempo possível.

Cada Termo de Colheita de Amostras corresponde a cinco unidades do produto de uma única marca comercial, conforme descrito acima.

5.1 – Recepção e estocagem no laboratório

Observar o aspecto geral da amostra. Verificar se o produto não contém tempero, se todas as unidades apresentam a mesma data de embalagem e/ou prazo de validade do produto e se as mesmas estão congeladas.

Armazenar as unidades da amostra no laboratório, em freezer. Para iniciar as análises, proceder ao descongelamento das mesmas em refrigerador, na embalagem original, durante 18 horas.

5.3 – Enxaguadura da amostra

A etapa de enxaguadura da amostra é comum para os ensaios de pesquisa e contagem de *Salmonella* e também para pesquisa de *Enterococcus* sp.

Proceder a limpeza da superfície externa da embalagem utilizando gaze embebida em 70%. Abrir a embalagem com bisturi estéril. Desprezar os miúdos e transferir a carcaça para saco plástico estéril.

Pesar a amostra e adicionar, para cada 1 g do frango, 1 mL de APT. Fazer a enxaguadura, cuidadosamente e de maneira uniforme, em toda a superfície da carcaça.

Transferir o caldo de enxaguadura para erlenmeyer de 5L.

Deixar em repouso durante 60 minutos à temperatura ambiente. Verificar o pH do homogenato com papel indicador de pH. Se necessário, ajustar o pH para $6,8 \pm 0,2$ utilizando ácido clorídrico 1N e hidróxido de sódio 1N.

Após o ajuste do pH, proceder à sementeira dos meios para enterococos a partir do caldo de enxaguadura.

Para os ensaios de *Salmonella* sp, acrescentar ao caldo de enxaguadura, Triton X – 100 (submetido a vapor fluente durante 15 minutos). A utilização desse surfactante deve ser limitada à menor quantidade suficiente para iniciar a formação de espuma.



	Ministério da Saúde	
	Fundação Oswaldo Cruz	
	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde	
	Av. Brasil, 4365 - Manguinhos - CEP 21045-900 - Rio de Janeiro - RJ - Brasil	
	Tel: (0xx21) 3865-5151 Fax: (0xx21) 2290-0915	
MANUAL DA QUALIDADE		
TÍTULO: RECEPÇÃO E PROCESSAMENTO INICIAL DE AMOSTRAS DE CARÇAÇAS CONGELADAS DE FRANGO E EMISSÃO DO LAUDO DE ANÁLISE		NÚMERO 65.3210.043

Nota:

Cada 1 mL do caldo de enxaguadura corresponde a 1g da amostra.

Proceder à pesquisa de *Salmonella* sp (POP INCQS n° 65.3210.044) e à pesquisa de *Enterococcus* sp (POP IAL) nas 5 unidades da amostra. Realizar a contagem de *Salmonella* sp (POP INCQS n° 65.3210.044) em apenas uma unidade da amostra.

5.4 – Análise de Rotulagem

Proceder à análise de rotulagem segundo a Resolução RDC ANVISA n° 13 de 02/01/2001, que estabelece a obrigatoriedade para os produtores de carnes de aves e seus miúdos crus, resfriados ou congelados, de incluir na rotulagem destes produtos as instruções de uso, preparo e conservação dos mesmos.

5.5 – Laudo de análise

5.5.1 – Elaborar o “Laudo de Análise” com as informações listadas abaixo.

- a) informações sobre a amostra:
- Número de Cadastro da Amostra no Laboratório;
 - Modalidade de Análise: Orientação;
 - Programa;
 - Nome do Produto: Carcaça Congelada de Frango;
 - Quantidade Recebida;
 - Data de Fabricação;
 - Data de Validade;
 - Número do Lote;
 - Termo de Apreensão;
 - Motivo da Apreensão: Programa Nacional de Monitoramento da Prevalência e da Resistência Bacteriana em Frango – PREBAF;
 - Registro;
 - Fabricante;
 - Logradouro;
 - País;
 - Local de Coleta;
 - Requerente;
 - Pessoa de Contato;
 - Documento;
 - Data de Entrada;
 - Descrição da Amostra.



	Ministério da Saúde	
	Fundação Oswaldo Cruz	
	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde	
	Av. Brasil, 4365 - Manguinhos - CEP 21045-900 - Rio de Janeiro - RJ - Brasil	
	Tel: (0xx21) 3865-5151 Fax: (0xx21) 2290-0915	
MANUAL DA QUALIDADE		
TÍTULO: RECEPÇÃO E PROCESSAMENTO INICIAL DE AMOSTRAS DE CARCAÇAS CONGELADAS DE FRANGO E EMISSÃO DO LAUDO DE ANÁLISE		NÚMERO 65.3210.043

b) Resultado da análise

Nome do Ensaio: **Análise de Rotulagem:**

Referência: Resolução RDC n.º 13 de 02/01/2001-ANVISA

Resultado: Satisfatório/Insatisfatório

Nome do Ensaio: **Pesquisa de Salmonella**

Referência : POP INCQS nº 65.3210.044

Resultado: Presente/Ausente

Unidade da Amostra A _____

Unidade da Amostra B _____

Unidade da Amostra C _____

Unidade da Amostra D _____

Unidade da Amostra E _____

Nome do Ensaio: **Contagem de Salmonella sp**

Referência: POP INCQS nº 65.3210.044

Unidade da amostra _____

Resultado _____ (NMP) LIC = _____ ; LSC = _____

Nome do Ensaio: **Pesquisa de Enterococcus sp**

Referência: POP IAL – Detecção de Enterococos em Carcaças congeladas de Frango Meio com vancomicina:

Resultado: Presente/Ausente

Unidade da Amostra A _____

Unidade da Amostra B _____

Unidade da Amostra C _____

Unidade da Amostra D _____

Unidade da Amostra E _____

Meio sem Vancomicina:

Resultado: Presente/Ausente

Unidade da Amostra A _____

Unidade da Amostra B _____

Unidade da Amostra C _____

Unidade da Amostra D _____

Unidade da Amostra E _____

5.5.2 – No final do laudo de análise deve constar a seguinte mensagem padrão:

“Este laudo não pode ser utilizado em publicidade, propaganda ou para fins comerciais. Os resultados deste laudo referem-se única e exclusivamente à amostra encaminhada pelo solicitante.”

5.5.3 Os Laudos de Análise devem ser encaminhados à VISA responsável pela colheita da amostra.



	Ministério da Saúde	
	Fundação Oswaldo Cruz	
	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde	
	Av. Brasil, 4365 - Manguinhos - CEP 21045-900 - Rio de Janeiro - RJ - Brasil	
	Tel: (0xx21) 3865-5151 Fax: (0xx21) 2290-0915	
MANUAL DA QUALIDADE		
TÍTULO: RECEPÇÃO E PROCESSAMENTO INICIAL DE AMOSTRAS DE CARÇAÇAS CONGELADAS DE FRANGO E EMISSÃO DO LAUDO DE ANÁLISE		NÚMERO 65.3210.043

6. BIBLIOGRAFIA

ANDREWS, Wallace H. & June, Geraldine A. Food Sampling and Preparation of Sample. Homogenate. In: BACTERIOLOGICAL Analytical Manual Online. [S.l.]; FDA, 2003. Disponível em: < <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-1.html> >. Acesso em 12 Jul 2004.

DETECÇÃO de Enterococos em Carcaças Congeladas de Frango. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz.

ISO – 6579:1993. Microbiology – General guidance on methods for the detection of Salmonella.

MESSER, Russel S.; Midura, Thaddeus F.; Peeler, James T. Sampling plans, sample collection, shipment and preparation for analysis. In: COMPENDIUM of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 4 ed. Washington, D.C: American Public Health Association (APHA), 2001. cap.2, p. 13-23.

PESQUISA e Contagem de *Salmonella* sp em Carcaças Congeladas de Frango. In: MANUAL da Qualidade. Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ. Seção 10 (65.3210.044).

Brasil. Resolução RDC nº 13 de 2 de janeiro de 2001 – Aprova o regulamento técnico para instruções de uso, preparo e conservação na rotulagem de carnes de aves e seus miúdos crus, resfriados ou congelados e seu anexo. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília.

/ANEXO A



	Ministério da Saúde	
	Fundação Oswaldo Cruz	
	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde	
	Av. Brasil, 4365 - Manguinhos - CEP 21045-900 - Rio de Janeiro - RJ - Brasil	
	Tel: (0xx21) 3865-5151 Fax: (0xx21) 2290-0915	
MANUAL DA QUALIDADE		
TÍTULO: RECEPÇÃO E PROCESSAMENTO INICIAL DE AMOSTRAS DE CARCAÇAS CONGELADAS DE FRANGO E EMISSÃO DO LAUDO DE ANÁLISE		NÚMERO 65.3210.043

ANEXO A

MEIOS DE CULTURA

A.1 – Água peptonada tamponada

Peptona	10 g
Cloreto de sódio.....	5 g
Fosfato de sódio dibásico	3,5 g
Fosfato de potássio monobásico.....	1,5 g
Água destilada.....	1000 mL

Suspender e dissolver os componentes em água destilada. Distribuir alíquotas de 3000 mL em frascos Erlenmeyers de 5 L ou frasco similar. Esterilizar em autoclave a 121°C durante 15 minutos.
pH final: 7,2 ± 0,2 a 25°C.

Nota:

O meio pronto deve ser estocado a temperatura de 15 a 30°C.

Para o preparo a partir do meio desidratado, obedecer às recomendações do fabricante.

/ANEXO B



	Ministério da Saúde	
	Fundação Oswaldo Cruz	
	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde	
	Av. Brasil, 4365 - Manguinhos - CEP 21045-900 - Rio de Janeiro - RJ - Brasil	
	Tel: (0xx21) 3865-5151 Fax: (0xx21) 2290-0915	
MANUAL DA QUALIDADE		
TÍTULO: RECEPÇÃO E PROCESSAMENTO INICIAL DE AMOSTRAS DE CARCAÇAS CONGELADAS DE FRANGO E EMISSÃO DO LAUDO DE ANÁLISE		NÚMERO 65.3210.043

ANEXO B

SOLUÇÕES E REAGENTES

B.1 – Ácido clorídrico 1N

Ácido clorídrico concentrado 89 mL
 Água destilada q.s.p. 1000 mL

Esterilizar em autoclave a 121° C durante 15 minutos.

Nota: Estocar a temperatura ambiente.

B.2 – Hidróxido de sódio 1N

Hidróxido de Sódio 40 g
 Água destilada q.s.p. 1000 mL

Esterilizar em autoclave a 121° C durante 15 minutos.

Nota: Estocar a temperatura ambiente.

B.3 – Triton X-100

Transferir um volume de aproximadamente 50mL de Triton X-100 para frasco escuro de 250mL ou frasco similar. Esterilizar sob vapor fluente por 15 minutos.

Nota: Estocar a temperatura ambiente.



Ministério da Saúde				
Fundação Oswaldo Cruz				
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde				
Av. Brasil, 4365 - Manguinhos - CEP 21045-900 - Rio de Janeiro - RJ - Brasil				
Tel: (0xx21) 3865-5151 Fax: (0xx21) 2290-0915				
MANUAL DA QUALIDADE				
TÍTULO: PESQUISA E CONTAGEM DE Salmonella SP EM CARÇAÇAS CONGELADAS DE FRANGO				NÚMERO 65.3210.044
PALAVRAS-CHAVE:			Seção do Manual 10	REVISÃO 00
SALMONELLA SP - ALIMENTOS - CARÇAÇAS DE FRANGO				
ELABORADO	VERIFICADO	APROVADO	REFERENDADO	DATA
Carla de O. Rosas	Márcia B Warnken	Marise S. de Magalhães	Eduardo Chaves Leal	13/07/2004

SUMÁRIO

1. Objetivo
2. Campo de aplicação
3. Siglas
4. Condições Gerais
5. Condições Específicas
6. Bibliografia
7. Anexos
 - A. Meios de Cultura
 - B. Soluções e Reagentes
 - C. Tabela NMP
 - D. Ficha de Controle dos Ensaio de *Salmonella* sp.

1. OBJETIVO

Este Procedimento Operacional Padronizado (POP) estabelece as condições e procedimentos para pesquisa e contagem de *Salmonella* sp em carcaças de frango sem tempero.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO

Este POP aplica-se ao Programa Nacional de Monitoramento da Prevalência e da ANVISA e visa uniformizar as metodologias de análise para os laboratórios participantes.



	Ministério da Saúde	
	Fundação Oswaldo Cruz	
	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde	
	Av. Brasil, 4365 - Manguinhos - CEP 21045-900 - Rio de Janeiro - RJ - Brasil	
	Tel: (0xx21) 3865-5151 Fax: (0xx21) 2290-0915	
MANUAL DA QUALIDADE		
TÍTULO: PESQUISA E CONTAGEM DE Salmonella SP EM CARÇAÇAS CONGELADAS DE FRANGO		NÚMERO 65.3210.044

3. SIGLAS

São usadas no texto deste POP as seguintes siglas:

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ATCC - American Type Culture Collection

INCQS - Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

4. CONDIÇÕES GERAIS

4.1 – Materiais e equipamentos

- a) agitador de tubos;
- b) alça e agulha de platina ou níquel-cromo número 25 (diâmetro de 3 mm);
- c) banho termostático a $42 \pm 1^{\circ}\text{C}$;
- d) frascos erlenmeyers com capacidade de 250 mL; 500 mL e 1000 mL;
- e) estufa bacteriológica a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$;
- f) lâminas de vidro;
- g) palitos de madeira;
- h) pipetas graduadas de 1, 5 e 10 mL;
- i) placas de Petri;
- j) tubos de ensaio 13 x 100 mm;
- k) tubos de ensaio 16 x 160 mm.

Nota:

Esterilizar o material em forno Pasteur a 180°C durante 2 horas.

4.2 – Meios de cultura (ver Anexo A)

- a) ágar entérico Hektoen;
- b) ágar lisina ferro;
- c) ágar nutriente;
- d) ágar tríplice açúcar ferro;
- e) ágar xilose lisina desoxicolato;
- f) água peptonada tamponada (APT);
- g) caldo tetracionato;
- h) caldo uréia;
- i) meio Rappaport – Vassiliadis.



	Ministério da Saúde	
	Fundação Oswaldo Cruz	
	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde	
	Av. Brasil, 4365 - Manguinhos - CEP 21045-900 - Rio de Janeiro - RJ - Brasil	
	Tel: (0xx21) 3865-5151 Fax: (0xx21) 2290-0915	
MANUAL DA QUALIDADE		
TÍTULO: PESQUISA E CONTAGEM DE <i>Salmonella</i> SP EM CARCAÇAS CONGELADAS DE FRANGO		NÚMERO 65.3210.044

4.3 – Soluções e reagentes (ver Anexo B)

- a) Antissoro polivalente para *Salmonella* sp;
- b) solução de iodo-iodeto de potássio;
- c) solução de verde brilhante a 0,1%;
- d) solução salina 0,85%;
- e) tampão fosfato de Butterfield.

4.4 – Microrganismos de referência

- a) *Salmonella* Typhimurium - INCQS 150 (ATCC 14028);
- b) *Escherichia coli* - INCQS 033 (ATCC 25922);
- c) *Proteus vulgaris* - INCQS 106 (ATCC 13315).

Para a utilização das culturas de microrganismos de referência seguir as especificações do POP (65.3210.041) – “Utilização de Bactérias de Referência da Coleção de Culturas do INCQS no Controle Microbiológico de Alimentos” - INCQS/FIOCRUZ.

5. CONDIÇÕES ESPECÍFICAS

Para os ensaios de pesquisa e contagem de *Salmonella* sp utilizar o caldo de enxaguadura obtido a partir da metodologia descrita no POP (65.3210.043) – “Recepção e Processamento Inicial de Amostras de Carcaças Congeladas de Frango” – INCQS/FIOCRUZ.

5.1 – Pré-enriquecimento

5.1.1 – Pesquisa de *Salmonella* sp (Ensaio qualitativo)

Transferir 25 mL do caldo de enxaguadura (volume correspondente a 25 g da amostra) para frasco erlenmeyer contendo 225 mL de APT. Agitar com movimentos circulares, cuidadosamente. Incubar a 35°C ± 2°C durante 18 a 24 horas.

5.1.2 – Determinação do Número Mais Provável de *Salmonella* sp (Ensaio qualitativo)

Preparar a diluição 10-1 transferindo 50 mL do caldo de enxaguadura para frasco erlenmeyer contendo 450 mL de tampão de Butterfield (diluição 10-1).

A partir da diluição 10-1 preparar diluições decimais seriadas, acrescentando 10 mL da em frasco contendo 90 mL de tampão de Butterfield.



	Ministério da Saúde	
	Fundação Oswaldo Cruz	
	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde	
	Av. Brasil, 4365 - Manguinhos - CEP 21045-900 - Rio de Janeiro - RJ - Brasil	
	Tel: (0xx21) 3865-5151 Fax: (0xx21) 2290-0915	
MANUAL DA QUALIDADE		
TÍTULO: PESQUISA E CONTAGEM DE <i>Salmonella</i> SP EM CARÇAÇAS CONGELADAS DE FRANGO		NÚMERO 65.3210.044

Preparar 5 séries de diluições com 3 tubos cada (correspondendo de 10 g a 0,001 g do alimento), como descrito abaixo:

1ª série (10 g) – Distribuir alíquotas de 10 mL do caldo de enxaguadura em 3 tubos de ensaio vazios e estéreis;

2ª série (1 g) – Distribuir alíquotas de 1 mL do caldo de enxaguadura em 3 tubos contendo 10 mL de APT;

3ª série (0,1 g) - Distribuir alíquotas de 1 mL da diluição 10^{-1} em 3 tubos contendo 10 mL de APT;

4ª série (0,01 g) - Distribuir alíquotas de 1 mL da diluição 10^{-2} em 3 tubos contendo 10 mL de APT;

5ª série (0,001 g) – Distribuir alíquotas de 1 mL da diluição 10^{-3} em 3 tubos contendo 10 mL de APT.

Notas:

a) em cada série de tubos identificar as diluições e classificar os tubos como A, B e C;

b) incubar os tubos a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 18 a 24 horas.

5.2 – Enriquecimento seletivo

Para o ensaio quantitativo, selecionar apenas os tubos que apresentarem turvação para proceder à etapa de enriquecimento seletivo.

A partir da etapa de enriquecimento seletivo aplicar o procedimento descrito abaixo tanto para a metodologia de pesquisa (ensaio qualitativo), quanto para a determinação do Número Mais Provável (ensaio quantitativo) de *Salmonella* sp.

Semear os meios de enriquecimento seletivo a partir da APT.

a) transferir 0,1 mL do caldo de pré-enriquecimento, previamente homogeneizado por movimentos circulares, para tubos contendo 10 mL de meio Rappaport - Vassiliadis;

b) transferir 1 mL do caldo de pré-enriquecimento, previamente homogeneizado por movimentos circulares, para tubos contendo 10 mL de caldo tetracionato;

Nota:

No momento da utilização do caldo tetracionato acrescentar 0,1 mL de solução de verde brilhante a 0,1% e 0,2 mL de solução iodo – iodeto de potássio (Anexo B). Homogeneizar utilizando agitador de tubos.

Incubar os tubos em banho termostático a $42 \pm 1^{\circ}\text{C}$, durante 18 a 24 horas.



	Ministério da Saúde	
	Fundação Oswaldo Cruz	
	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde	
	Av. Brasil, 4365 - Manguinhos - CEP 21045-900 - Rio de Janeiro - RJ - Brasil	
	Tel: (0xx21) 3865-5151 Fax: (0xx21) 2290-0915	
MANUAL DA QUALIDADE		
TÍTULO: PESQUISA E CONTAGEM DE <i>Salmonella</i> SP EM CARÇAÇAS CONGELADAS DE FRANGO		NÚMERO 65.3210.044

5.3 – Isolamento

Semear, por esgotamento, uma alçada de cada uma das culturas de enriquecimento seletivo, previamente homogeneizadas em agitador de tubos, para a superfície dos seguintes meios seletivo-indicadores: ágar entérico Hektoen e ágar xilose lisina desoxicolato.

Incubar as placas em posição invertida a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, durante 18 a 24 horas.

5.3.1 – Controle dos meios seletivo-indicadores

Semear, por esgotamento, as cepas controle de *Salmonella* Typhimurium e *E. coli* (item 4.4) em placas contendo ágar entérico Hektoen e ágar xilose lisina desoxicolato

Incubar a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, durante 18 a 24 horas.

Observar o crescimento dos microrganismos de referência nas placas de meios que devem apresentar as características descritas a seguir:

	<i>Salmonella</i> Typhimurium	<i>Escherichia coli</i>
Ágar Hektoen	Colônias negras ou verde-azuladas com centro negro	Colônias vermelhas ou salmão, com halo de precipitação
Ágar XLD	Colônias negras ou transparentes, da cor do meio, com centro negro	Colônias amarelas, opacas, com halo de precipitação

5.4 – Seleção das colônias

Observar as placas de cada meio seletivo que contenham colônias típicas de *Salmonella* sp. Selecionar de duas a cinco colônias e semear em tubo contendo ágar nutriente.

Incubar a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, durante 18 a 24 horas.

5.5 – Triagem Bioquímica

5.5.1 – Semeadura de colônias suspeitas de *Salmonella* sp em ágar TSI e ágar LIA.

Com o auxílio de uma agulha bacteriológica tocar o crescimento do ágar nutriente. Perfurar a base do ágar TSI em profundidade e realizar movimentos de estrias na superfície. Sem flambar a agulha, perfurar a base do ágar LIA em dois diferentes pontos e, em seguida, deslizar a agulha pelo centro da superfície do ágar.

Incubar a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, durante 18 a 24 horas.



	Ministério da Saúde	
	Fundação Oswaldo Cruz	
	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde	
	Av. Brasil, 4365 - Manguinhos - CEP 21045-900 - Rio de Janeiro - RJ - Brasil	
	Tel: (0xx21) 3865-5151 Fax: (0xx21) 2290-0915	
MANUAL DA QUALIDADE		
TÍTULO: PESQUISA E CONTAGEM DE <i>Salmonella</i> SP EM CARÇAÇAS CONGELADAS DE FRANGO		NÚMERO 65.3210.044

5.5.1.1 – Controle dos meios TSI e LIA

Proceder à semeadura dos microrganismos de referência: *Salmonella* Typhimurium e *E. coli* (item 4.4), em ágar TSI e ágar LIA.

Incubar a 35°C ± 2°C, durante 18 a 24 horas.

Observar o comportamento bioquímico das cepas de referência, que apresentar as características descritas a seguir:

	<i>Salmonella</i> Typhimurium	<i>Escherichia coli</i>
Ágar TSI	Superfície alcalina (vermelha) e base ácida (amarela) com H ₂ S	Superfície ácida e base ácida (amarelo)
Ágar LIA	Superfície alcalina e base alcalina (violeta) com H ₂ S	Superfície alcalina (violeta) e base ácida (amarela)

5.5.1.2 – Leitura dos meios TSI e LIA

Selecionar as culturas com comportamento bioquímico característico de *Salmonella* sp. Como descrito acima.

5.5.2 – Semeadura das culturas suspeitas de *Salmonella* sp. em caldo uréia. Semear o crescimento, a partir do ágar TSI em caldo uréia.

Incubar a 35°C ± 2°C, durante 18 a 24 horas.

5.5.2.1 – Controle do caldo uréia

Utilizar como controle as cepas de *Salmonella* *Thyphimurium* e *P. Vulgaris* (item 4.4).

Incubar a 35°C ± 2°C, durante 18 a 24 horas, juntamente com o tubo contendo o meio não semeado, para controle negativo.

	<i>Salmonella</i> Typhimurium	<i>Proteus vulgaris</i>
Caldo uréia	Urease negativa: não ocorre mudança na coloração do meio	Urease positiva: a coloração do meio é iterada para rosa intenso



	Ministério da Saúde	
	Fundação Oswaldo Cruz	
	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde	
	Av. Brasil, 4365 - Manguinhos - CEP 21045-900 - Rio de Janeiro - RJ - Brasil	
	Tel: (0xx21) 3865-5151 Fax: (0xx21) 2290-0915	
MANUAL DA QUALIDADE		
TÍTULO: PESQUISA E CONTAGEM DE <i>Salmonella</i> SP EM CARÇAÇAS CONGELADAS DE FRANGO		NÚMERO 65.3210.044

5.5.2.2 – Leitura da prova da urease

Selecionar as culturas com comportamento bioquímico característico de *Salmonella* sp. como descrito acima.

5.6 – Sorologia Polivalente

Submeter as culturas suspeitas de *Salmonella* sp. a soroglutinação em lâmina. Utilizar cepa de referência de *Salmonella* Typhimurium (item 4.4), como controle.

Semear a cultura suspeita em ágar nutriente inclinado, a partir do ágar TSI.

Incubar a 35°C ± 2°C, durante 18 a 24 horas.

Adicionar 1,5 mL de salina 0,85% à cultura de ágar nutriente e suspender o crescimento. A suspensão bacteriana deve ser homogênea, sem grumos e deve apresentar uma turvação que se enquadre entre os tubos 2 e 3 da escala de McFarland.

Na extremidade de uma lâmina limpa e desengordurada com álcool, depositar uma gota da suspensão e uma gota de salina 0,85%. Homogeneizar utilizando palito de madeira.

As culturas que apresentarem aglutinação com salina devem ser classificadas como auto-aglutináveis. Prosseguir o ensaio somente com as culturas que não aglutinarem com salina.

Na outra extremidade da lâmina adicionar uma gota da suspensão bacteriana e uma gota do antissoro polivalente. Misturar com palito de madeira estéril. Incliná-la com movimentos leves e circulares, continuamente por 1 minuto.

A formação de grumos na mistura que contém o antissoro polivalente caracteriza o resultado como positivo. Classificar a cultura como *Salmonella* sp.

5.7 – Preparo e envio dos isolados para o Laboratório de Referência

As culturas classificadas como *Salmonella* sp devem ser enviadas ao Laboratório de Enterobactérias/IOC/FIOCRUZ para caracterização antigênica.

Enviar ao Laboratório de Referência somente os isolados obtidos a partir do ensaio qualitativo. Seguir os procedimentos descritos no POP LABENT/IOC - FIOCRUZ:

“Encaminhamento das cepas de *Salmonella* spp, para caracterização antigênica e avaliação da suscetibilidade antimicrobiana”



	Ministério da Saúde	
	Fundação Oswaldo Cruz	
	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde	
	Av. Brasil, 4365 - Manguinhos - CEP 21045-900 - Rio de Janeiro - RJ - Brasil	
	Tel: (0xx21) 3865-5151 Fax: (0xx21) 2290-0915	
MANUAL DA QUALIDADE		
TÍTULO: PESQUISA E CONTAGEM DE <i>Salmonella</i> SP EM CARÇAÇAS CONGELADAS DE FRANGO		NÚMERO 65.3210.044

5.8 – Expressão dos Resultados

5.8.1 – Pesquisa de *Salmonella* sp (ensaio qualitativo)

Expressar o resultado como presença ou ausência de *Salmonella* sp em 25g da amostra.

5.8.2 – Determinação do NMP de *Salmonella* sp (ensaio quantitativo)

Avaliar os tubos positivos de cada série. Fazer a leitura final considerando as três últimas iluições que apresentarem *Salmonella* sp. Proceder à leitura do resultado utilizando as tabelas de NMP (Anexo C).

5.9 – Preenchimento e envio da “Ficha de Controle dos Ensaio de *Salmonella* sp

Ao término das análises, preencher na “Ficha de Controle dos Ensaio de *Salmonella* sp” (Anexo D) e enviá-la à Coordenação do Programa Nacional da Prevalência e da Resistência Bacteriana em Frango.

6. BIBLIOGRAFIA

ANDREWS, W. H. And HAMMACK, T.S. *Salmonella*. In: BACTERIOLOGICAL Analytical Arlington: AOAC/FDA, cap. 5, p. 5.01 – 20; Updated: October 2001 (www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-5.html).

ENCAMINHAMENTO das Cepas de *Salmonella* spp. spp, para Caracterização Antigênica e Avaliação da Suscetibilidade Antimicrobiana. Rio de Janeiro: LABENT/IOC – FIOCRUZ.

FLOWERS, Russel S. *et. al. Salmonella*. In: COMPENDIUM of methods for the microbiological examination of food. 3 ed. Washington, D.C: American Public Health Association (APHA), 1992. 1219p. cap. 25, p. 371-422.

RECEPÇÃO e Processamento Inicial de Amostras de Carcaças Congeladas de Frango. In : MANUAL da Qualidade. Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ. Seção 10. (65.3210.043).

Robert Blodgett. Most Probable Number from Serial Dilutions. In: BACTERIOLOGICAL Analytical Manual. 8 ed. – Revision A, 1998. Arlington: AOAC/FDA, Appendix 2, p. App 2.01 – 2.12; Updated: January 2001. (www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-5.html).

UTILIZAÇÃO de Bactérias de Referência da Coleção de Culturas do INCQS no Controle Microbiológico de Alimentos. In : MANUAL da Qualidade. Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ. Seção 10. (65.3210.041).



	Ministério da Saúde	
	Fundação Oswaldo Cruz	
	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde	
	Av. Brasil, 4365 - Manguinhos - CEP 21045-900 - Rio de Janeiro - RJ - Brasil	
	Tel: (0xx21) 3865-5151 Fax: (0xx21) 2290-0915	
MANUAL DA QUALIDADE		
TÍTULO: PESQUISA E CONTAGEM DE Salmonella SP EM CARÇAÇAS CONGELADAS DE FRANGO		NÚMERO 65.3210.044

ANEXO A

MEIOS DE CULTURA

O anexo A apresenta as formulações dos meios de cultura a serem utilizados neste POP. Para o preparo a partir dos meios desidratados, obedecer às recomendações dos fabricantes.

A.1 – Ágar entérico Hektoen

Peptona	12g
Sais de bile.....	3g
Extrato de levedura	9g
Lactose	12g
Sacarose	12g
Salicina	2g
Cloreto de sódio.....	5g
Tiosulfato de sódio	5g
Citrato férrico amoniacal	1,5g
Azul de bromotimol	0,065g
Fucsina ácida	0,1g
Ágar	14g
Água destilada.....	1000mL

Dissolver os ingredientes em banho termostático com freqüente agitação. Evitar que o meio ferva por mais de 1 minuto. Não autoclavar Distribuir alíquotas de aproximadamente 20 mL em placas de Petri estéreis.

pH final $7,5 \pm 0,2$ a 25°C.

A.2 -Ágar Lisina Ferro

Peptona	5,0g
Extrato de levedura	3,0g
Glicose.....	1,0g
L-Lisina	10,0g
L-arginina	10g
Citrato férrico amoniacal	0,5g
Tiosulfato de sódio	0,04g
Púrpura de bromocresol	0,02g
Ágar	15,0g
Água destilada.....	1000 mL

/ANEXO A – Cont.



	Ministério da Saúde	
	Fundação Oswaldo Cruz	
	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde	
	Av. Brasil, 4365 - Manguinhos - CEP 21045-900 - Rio de Janeiro - RJ - Brasil	
	Tel: (0xx21) 3865-5151 Fax: (0xx21) 2290-0915	
MANUAL DA QUALIDADE		
TÍTULO: PESQUISA E CONTAGEM DE Salmonella SP EM CARÇAÇAS CONGELADAS DE FRANGO		NÚMERO 65.3210.044

ANEXO A – Cont.

Dissolver os ingredientes em banho termostático com freqüente agitação. Distribuir alíquotas de 5 mL em tubos 13X100 mm. Esterilizar a 121°C / 15 min. Inclinando os tubos de maneira a se obter uma base de 4 cm e uma inclinação de 2,5 cm.
pH final 6,8 ± 0,2 a 25°C.

A.3 – Ágar nutriente

Peptona	5g
Extrato de carne.....	3g
Ágar	15g
Água destilada.....	1000 mL

Suspender os componentes em água destilada e dissolver em banho termostático até a dissolução do ágar. Distribuir alíquotas de 3 mL em tubos 13 x 100 mm.
Esterilizar em autoclave a 121°C durante 15 minutos e deixar o ágar solidificar em posição inclinada.
pH final: 6,8 ± 0,2 a 25°C.

A.4 – Agar três açúcares e ferro (TSI)

Extrato de carne.....	3g
Extrato de levedura	3g
Peptona de caseína	15g
Peptona de carne	5g
Lactose	10g
Sacarose	10g
Glicose.....	1g
Sulfato ferroso	0,2g
Cloreto de sódio.....	5g
Tiosulfato de sódio	0,3g
Vermelho de fenol.....	0,024g
Ágar	12g
Água destilada.....	1000 mL

Suspender os componentes em água destilada e dissolver por aquecimento até a total dissolução do ágar. Distribuir 3 mL em tubos 13 x 100 mm. Esterilizar em autoclave a 121°C durante 15 minutos. Inclinando os tubos de maneira a se obter uma base de 2 a 3 cm e uma inclinação de 4 a 5 cm.
pH final: 7,4 ± 0,2 a 25°C.

/ANEXO A – Cont.



	Ministério da Saúde	
	Fundação Oswaldo Cruz	
	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde	
	Av. Brasil, 4365 - Manguinhos - CEP 21045-900 - Rio de Janeiro - RJ - Brasil	
	Tel: (0xx21) 3865-5151 Fax: (0xx21) 2290-0915	
MANUAL DA QUALIDADE		
TÍTULO: PESQUISA E CONTAGEM DE Salmonella SP EM CARCAÇAS CONGELADAS DE FRANGO		NÚMERO 65.3210.044

ANEXO A – Cont.

A.5 – Agar xilose lisina desoxicolato

Extrato de levedura	3g
L-lisina	5g
Xilose.....	3,75g
Lactose	7,5g
Sacarose	7,5g
Desoxicolato de sódio	2,5g
Citrato férrico amoniacal	0,8g
Cloreto de sódio.....	5g
Tiosulfato de sódio	6,8g
Vermelho de fenol.....	,08g
Ágar	15g
Água destilada.....	1000 mL

Suspender os componentes em água destilada e dissolver por aquecimento com agitação até a ebulição. Evitar o aquecimento excessivo. Não autoclavar. Distribuir alíquotas de aproximadamente 20 mL em placas de Petri.

pH final: $7,4 \pm 0,2$ a 25°C.

A.6 –Água peptonada tamponada (APT)

Peptona	10g
Cloreto de sódio.....	5g
Fosfato de sódio dibásico	3,5g
Fosfato de potássio monobásico.....	1,5g
Água destilada.....	1000 mL

Suspender e dissolver os componentes em água destilada. Distribuir alíquotas de 225 mL em frascos erlenmeyers com capacidade de 500 mL e alíquotas de 10 mL em tubos de ensaio.16 x 160mm.

Esterilizar em autoclave a 121°C durante 15 minutos.

pH final: $7,2 \pm 0,2$ a 25°C.

Nota:

Omeio pronto deve ser estocado em temperatura de 15 a 30°C.

/ANEXO A – Cont.



	Ministério da Saúde	
	Fundação Oswaldo Cruz	
	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde	
	Av. Brasil, 4365 - Manguinhos - CEP 21045-900 - Rio de Janeiro - RJ - Brasil	
	Tel: (0xx21) 3865-5151 Fax: (0xx21) 2290-0915	
MANUAL DA QUALIDADE		
TÍTULO: PESQUISA E CONTAGEM DE Salmonella SP EM CARÇAÇAS CONGELADAS DE FRANGO		NÚMERO 65.3210.044

/ANEXO A – Cont.

A.7 – Caldo uréia

Extrato de levedura	0,1g
Fosfato dibásico de sódio	9,5g
Fosfato monobásico de potássio.....	9,1g
Uréia bacteriológica	20,0g
Vermelho de fenol.....	0,01g
Água destilada.....	1000 mL

Suspender os ingredientes em água destilada e homogeneizar até a total dissolução. Esterilizar por filtração. Distribuir alíquotas de 3 mL em tubos de ensaio 13 x 100 mm. pH final $6,8 \pm 0,2$ a 25°C.

A.8 – Caldo tetrionato

Polipeptona.....	5g
Sais biliares	1g
Carbonato de cálcio	10g
Tiosulfato de sódio (pentahidratado).....	30g
Água destilada.....	1000 mL

Suspender os componentes em água destilada e dissolver por aquecimento até a ebulição. Distribuir alíquotas de 10 mL em tubos de ensaio 16 x 160 mm estéreis. Não autoclavar. Estocar por até duas semanas a 5-10°C. pH final $8,4 \pm 0,2$ a 25°C.

No momento da utilização do meio adicionar para cada 10 mL de caldo tetrionato 0,2 mL de solução de iodo-iodeto de potássio e 0,1 mL de solução de verde brilhante a 0,1% (Anexo B).

O meio não deverá ser estocado após o acréscimo das soluções descritas acima.

/ANEXO A – Cont.



	Ministério da Saúde	
	Fundação Oswaldo Cruz	
	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde	
	Av. Brasil, 4365 - Manguinhos - CEP 21045-900 - Rio de Janeiro - RJ - Brasil	
	Tel: (0xx21) 3865-5151 Fax: (0xx21) 2290-0915	
MANUAL DA QUALIDADE		
TÍTULO: PESQUISA E CONTAGEM DE Salmonella SP EM CARCAÇAS CONGELADAS DE FRANGO		NÚMERO 65.3210.044

ANEXO A – Cont.

A.9 – Meio Rappaport Vassiliadis

Meio base

Triptona	5g
Cloreto de sódio.....	8g
Fosfato monobásico de potássio.....	1,6g
Água destilada.....	1000 mL

O meio base deverá ser preparado no dia da sua utilização.

Solução de Cloreto de Magnésio

Cloreto de magnésio hexahidratado 400g

Água destilada 1000 mL

Estocar em frasco escuro a temperatura ambiente por até 1 ano.

Solução de verde malaquita oxalato

Verde malaquita oxalato..... 0,4g

Água destilada..... 100 mL

Estocar em frasco escuro a temperatura ambiente por até 6 meses.

Meio completo :

Para o preparo do meio completo acrescentar para cada 1000 mL do meio base : 100 mL de solução de cloreto de magnésio e 10 mL de solução de verde malaquita oxalato. Dispensar alíquotas de 10 mL em tubos 16 x 160 mm. Autoclavar a 115°C por 15 minutos. Estocar o meio completo em refrigerador e utilizar em até 1 mês após o preparo.

pH final $5,5 \pm 0,2$ a 25°C.

/ANEXO B



	Ministério da Saúde	
	Fundação Oswaldo Cruz	
	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde	
	Av. Brasil, 4365 - Manguinhos - CEP 21045-900 - Rio de Janeiro - RJ - Brasil	
	Tel: (0xx21) 3865-5151 Fax: (0xx21) 2290-0915	
MANUAL DA QUALIDADE		
TÍTULO: PESQUISA E CONTAGEM DE Salmonella SP EM CARCAÇAS CONGELADAS DE FRANGO		NÚMERO 65.3210.044

ANEXO B

SOLUÇÕES E REAGENTES

B.1 – Solução de iodo-iodeto de potássio

Iodeto de potássio 5g
Iodo ressublimado 6g
Água destilada estéril 20 mL

Dissolver o iodeto de potássio em 5 mL de água destilada estéril. Adicionar o iodo e dissolver por agitação. Diluir para um volume final de 20 mL.

B.2 – Solução de Verde Brilhante a 0,1%

Corante verde brilhante 0,1 g
Água destilada estéril 100 mL

Dissolver o corante em água estéril.

B.3 – Tampão de Butterfield

Solução estoque
Fosfato diácido de potássio (KH₂PO₄) 34g
Água destilada 500mL

Ajustar o pH a 7,2 com NaOH 1N. Completar o volume para 1 litro, adicionando água destilada. Esterilizar a 121°C por 15 minutos. Estocar sob refrigeração.

Preparo

Retirar 1,25 mL da solução estoque, descrita acima e acrescentar volume necessário de água destilada para completar 1 litro. Distribuir alíquotas de 225 mL em frascos erlenmeyers com capacidade de 500 mL e 90 mL em frascos erlenmeyers com capacidade de 250 mL. Esterilizar a 121°C por 15 minutos.

/ANEXO B – Cont.



	Ministério da Saúde	
	Fundação Oswaldo Cruz	
	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde	
	Av. Brasil, 4365 - Manguinhos - CEP 21045-900 - Rio de Janeiro - RJ - Brasil	
	Tel: (0xx21) 3865-5151 Fax: (0xx21) 2290-0915	
MANUAL DA QUALIDADE		
TÍTULO: PESQUISA E CONTAGEM DE Salmonella SP EM CARCAÇAS CONGELADAS DE FRANGO		NÚMERO 65.3210.044

ANEXO B – Cont.

B.4 – Solução salina a 0,85%

Cloreto de sódio..... 8,5g
 Água destilada..... 1000 mL

Dissolver o cloreto de sódio em água. Autoclavar a 121°C / 15 minutos. Resfriar a temperatura ambiente.

 /ANEXO C



	Ministério da Saúde	
	Fundação Oswaldo Cruz	
	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde	
	Av. Brasil, 4365 - Manguinhos - CEP 21045-900 - Rio de Janeiro - RJ - Brasil	
	Tel: (0xx21) 3865-5151 Fax: (0xx21) 2290-0915	
MANUAL DA QUALIDADE		
TÍTULO: PESQUISA E CONTAGEM DE Salmonella SP EM CARÇAÇAS CONGELADAS DE FRANGO		NÚMERO 65.3210.044

ANEXO C

TABELA NMP

TABELA PARA DETERMINAÇÃO DO NÚMERO MAIS PROVÁVEL (NMP)

Tabela 1 – Para 3 séries de 3 tubos, contendo cada série 0.1, 0.01 e 0.001g de inóculo, correlacionados com a tabela de NMP/g e com intervalos de confiança de 95%

Tubos positivos			NMP/g	Limites de confiabilidade		Tubos positivos			NMP/g	Limites de confiabilidade	
0.10	0.01	0.001		Inferior	Superior	0.10	0.01	0.001		Inferior	Superior
0	0	0	< 3.0	--	9.5	2	2	0	21	4.5	42
0	0	1	3.0	0.15	9.6	2	2	1	28	8.7	94
0	1	0	3.0	0.15	11	2	2	2	35	8.7	94
0	1	1	6.1	1.2	18	2	3	0	29	8.7	94
0	2	0	6.2	1.2	18	2	3	1	36	8.7	94
0	3	0	9.4	3.6	38	3	0	0	23	4.6	94
1	0	0	3.6	0.17	18	3	0	1	38	8.7	110
1	0	1	7.2	1.3	18	3	0	2	64	17	180
1	0	2	11	3.6	38	3	1	0	43	9	180
1	1	0	7.4	1.3	20	3	1	1	75	17	200
1	1	1	11	3.6	38	3	1	2	120	37	420
1	2	0	11	3.6	42	3	1	3	160	40	420
1	2	1	15	4.5	42	3	2	0	93	18	420
1	3	0	16	4.5	42	3	2	1	150	37	420
2	0	0	9.2	1.4	38	3	2	2	210	40	430
2	0	1	14	3.6	42	3	2	3	290	90	1
2	0	2	20	4.5	42	3	3	0	240	42	1
2	1	0	15	3.7	42	3	3	1	460	90	2
2	1	1	20	4.5	42	3	3	2	1100	180	4,1
2	1	2	27	8.7	94	3	3	3	>1100	420	--

/ANEXO D



	Ministério da Saúde	
	Fundação Oswaldo Cruz	
	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde	
	Av. Brasil, 4365 - Manguinhos - CEP 21045-900 - Rio de Janeiro - RJ - Brasil	
	Tel: (0xx21) 3865-5151 Fax: (0xx21) 2290-0915	
MANUAL DA QUALIDADE		
TÍTULO: PESQUISA E CONTAGEM DE <i>Salmonella</i> SP EM CARÇAÇAS CONGELADAS DE FRANGO		NÚMERO 65.3210.044

ANEXO D

FICHA DE CONTROLE DE ENSAIO DE *SALMONELLA* SP.

Número da amostra	Unidade da amostra	Número do isolado do LACEN	Meios de enriquecimento / isolamento	Data dos isol IC
			/	/
			/	/
			/	/
			/	/
			/	/
			/	/
			/	/
			/	/
			/	/
			/	/
			/	/
			/	/
			/	/
			/	/
			/	/

*O campo **Caracterização Antigênica** será utilizado pela coo

2) **Contagem de *Salmonella* sp**

Unidade Analítica: () **A** () **B** () **C** () **D** () **E**

Resultado: _____ /g (NMP)

Intervalo de confiança: Limite inferior _____; Limite superior _____



TÍTULO:	DETECÇÃO DE ENTEROCOCOS EM CARÇAÇAS DE FRANGO CONGELADAS	Número
		Revisão
PALAVRA-CHAVE	ENTEROCOCOS – ALIMENTOS – CARÇAÇAS DE FRANGO	Página 1/11

SUMÁRIO

1. OBJETIVO.....	1
2. CAMPO DE APLICAÇÃO.....	1
3. REFERÊNCIAS.....	1
3.1 Normativas.....	1
3.2 Cruzadas.....	2
4. DEFINIÇÕES E SIGLAS.....	2
5. PROCEDIMENTO.....	2
5.1 Equipamentos.....	2
5.2 Materiais.....	2
5.3 Meios de cultura.....	2
5.4 Soluções e reagentes.....	3
5.5 Microrganismo de referência.....	3
6. Condições específicas.....	3
6.1 - Recepção e estocagem no laboratório.....	3
6.2 - Enxaguadura da amostra.....	3

1. OBJETIVO

Estabelecer as condições e procedimentos para a detecção de *Enterococcus* sp em carcaças congeladas de frango.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO

Aplica-se ao Programa Nacional de Monitoramento de Enterococos em carcaças congeladas de frango (IAL/ANVISA) e visa uniformizar as metodologias de análise para os laboratórios participantes.

3. REFERÊNCIAS

3.1 - Normativas

Hartman. P. A.; Deibel, R.H.; Sieverding. M. Enterococci. In: Compendium of methods for the microbiological examination of foods. Ed. Washington, D.C.: American Public Health Association (APHA), 2001. cap. 9, p. 83-87.

	DATA	NOME
ELABORAÇÃO		
REVISÃO		
APROVAÇÃO		

CÓPIA NÃO CONTROLADA



TÍTULO:	DETECÇÃO DE ENTEROCOCOS EM CARÇAÇAS DE FRANGO CONGELADAS	Número
		Revisão
PALAVRA-CHAVE	ENTEROCOCOS – ALIMENTOS – CARÇAÇAS DE FRANGO	Página 1/11

3.2 - Cruzadas

Anexo 1 – Meios de cultura para detecção de Enterococos em carcaças congeladas de frango.

4. DEFINIÇÕES E SIGLAS

ATCC – American Type Culture Collection
 ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
 IAL – Instituto Adolfo Lutz

5. PROCEDIMENTO

5.1 - Equipamentos

- balança com capacidade para 3.000 g e sensibilidade de 0,01g;
- estufa bacteriológica a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$;
- banho-maria a $45^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$.

5.2 - Materiais

- placas de Petri;
- pipetas graduadas de 1, 5, 10 e 25 mL;
- tubos de ensaio 16 X 160 mm;
- tubos de ensaio de 12 X 120 mm;
- erlenmeyer com capacidade de 4.000 mL;
- erlenmeyer com capacidade de 300 mL;
- saco plástico esterilizado com capacidade de 3k ;
- papel indicador de pH;
- algodão;
- alça e agulha de níquel cromo número 25 (diâmetro de 3 mm);
- lâminas de vidro.

Nota: Esterilizar os materiais em forno Pasteur a 170°C durante 2 horas.

5.3 - Meios de cultura (Anexo - 1)

- água peptonada 1% (APT);
- ágar bile esculina;
- caldo Enterococcosel;
- Caldo Enterococcosel com vancomicina ($6\mu\text{g}/\text{mL}$);
- Ágar Enterococcosel;
- Ágar Enterococcosel com vancomicina ($6\mu\text{g}/\text{mL}$).

CÓPIA NÃO CONTROLADA



TÍTULO:	DETECÇÃO DE ENTEROCOCOS EM CARÇAÇAS DE FRANGO CONGELADAS	Número
		Revisão
PALAVRA-CHAVE	ENTEROCOCOS – ALIMENTOS – CARÇAÇAS DE FRANGO	Página 1/11

- g) caldo infusão Cérebro Coração (BHI);
h) caldo BHI contendo 6,5 % de NaCl.

5.4 - Soluções e reagentes (Anexo-2)

- a) peróxido de hidrogênio a 3%;
b) reagentes para coloração de Gram;
c) ácido clorídrico 1 N;
d) hidróxido de sódio 1 N;
e) solução de vancomicina;
f) reagentes para a coloração de Gram.

5.5 - Microrganismo de referência

- a) *Enterococcus faecalis* ATCC 29212
b) *S. Aureus* ATCC - 25923

6. Condições específicas

Acondicionadas e enviadas caixas isotérmicas ao laboratório, no menor período de tempo possível. Cada termo de coleta corresponde a cinco unidades do produto de uma única marca comercial. As cinco unidades devem apresentar a mesma data de embalagem e/ou data de vencimento do produto.

Proceder a pesquisa de Enterococos nas 5 unidades da amostra.

6.1 - Recepção e estocagem no laboratório

Observar o aspecto geral das amostras. Verificar se as mesmas encontram-se congeladas e se todas as unidades apresentam a mesma data de embalagem e/ou vencimento da validade.

Manter as amostras congeladas no laboratório. Proceder o descongelamento das mesmas na embalagem original durante 18 horas no refrigerador.

6.2 - Enxaguadura da amostra

Proceder a limpeza da superfície externa da embalagem utilizando algodão embebido em álcool 70%. Transferir a amostra para saco plástico estéril.

Desprezar os miúdos de frango. Pesar a amostra e adicionar para cada 1 g do frango 1 mL do APT. Fazer a enxaguadura, cuidadosamente, em toda a superfície

CÓPIA NÃO CONTROLADA



TÍTULO:	DETECÇÃO DE ENTEROCOCOS EM CARÇAÇAS DE FRANGO CONGELADAS	Número
		Revisão
PALAVRA-CHAVE	ENTEROCOCOS – ALIMENTOS – CARÇAÇAS DE FRANGO	Página 1/11

do frango de maneira uniforme. Transferir o caldo de enxaguadura para de 4.000 mL. Deixar em repouso durante 60 minutos à temperatura ambiente. Verificar o pH do homogeneizado com papel indicador. Se necessário, ajustar o pH para $6,8 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ utilizando ácido clorídrico 1N ou hidróxido de sódio 1N.

Nota: Cada 1 mL do caldo de enxaguadura corresponde a 1 g da amostra.

6.3 - Detecção de Enterococos

Retirar duas alíquotas de 25 mL do caldo APT e transferi-las cada uma para um frasco contendo 225 mL de caldo Enterococcosel e para um frasco de caldo Enterococcosel com vancomicina ($6\mu\text{g/mL}$). Incubar a 35°C por até 48 horas.

6.3.2 - Análise Confirmatória

Enterococcosel sem vancomicina, repicar uma sementeira por esgotamento, em uma placa de ágar Enterococcosel sem vancomicina. O mesmo procedimento deve ser realizado quando houver crescimento no caldo acrescido de vancomicina, sendo repicada uma alçada para uma placa de ágar Enterococcosel com vancomicina. Incubar a 35°C - 24h.

6.3.3 - Seleção das colônias

Observar as placas de cada meio seletivo que contenham colônias típicas de *Enterococcus* sp, colônias com halo enegrecido devido a hidrólise da esculina.

Selecionar duas colônias de cada meio, sem e com vancomicina e, repicar em caldo BHI. Incubar a $35^{\circ}\text{C}/18\text{-}24\text{h}$ e proceder aos seguintes testes:

Coloração de Gram. Preparar esfregaço a partir de caldo BHI. Os enterococos são cocos Gram positivos alongados, arranjados em pares ou pequenas cadeias.

Teste de crescimento na presença de bile e hidrólise da esculina. Semear uma alçada de cultura em um tubo de ágar bile esculina e incubar a $35^{\circ}\text{C}/24\text{h}$.

Crescimento indica resistência à bile e escurecimento do ágar indica hidrólise da esculina. Os ENTEROCOCOS crescem na presença de bile e hidrolisam a esculina.

Teste de crescimento em 6,5% de NaCl. Semear uma alçada de cultura em caldo BHI contendo 6,5% de NaCl e incubar a $35^{\circ}\text{C}/72\text{h}$. A maioria dos enterococos cresce em 6,5% de NaCl.

CÓPIA NÃO CONTROLADA



TÍTULO:	DETECÇÃO DE ENTEROCOCOS EM CARÇAÇAS DE FRANGO CONGELADAS	Número
		Revisão
PALAVRA-CHAVE	ENTEROCOCOS – ALIMENTOS – CARÇAÇAS DE FRANGO	Página 1/11

Teste de crescimento a 45°C. Semear uma alçada de cultura em caldo BHI e incubar a 45°C/72h. Todos os enterococos crescem a 45°C.

Teste de catalase. Adicionar em caldo BHI, 1 mL de peróxido de hidrogênio 3% e observar produção de bolhas de gás (teste positivo) ou não (teste negativo). Os enterococos apresentam reação negativa para o teste da catalase.

Nota: Todas as etapas dos testes devem ser realizadas em paralelo com a cepa de referência.

6.3.4 - Avaliação de resistência antimicrobiana

As colônias identificadas como *Enterococcus* sp, devem ser enviadas para o Instituto Adolfo Lutz – Seção de Bacteriologia - A/C da Dra Rosemeire Zanella para avaliação de resistência antimicrobiana, no endereço:

Av. Dr Arnaldo, 351, 9º andar

CEP: 01246-902

Cerqueira César

São Paulo - Capital

CÓPIA NÃO CONTROLADA



TÍTULO:	DETECÇÃO DE ENTEROCOCOS EM CARÇAÇAS DE FRANGO CONGELADAS	Número
		Revisão
PALAVRA-CHAVE	ENTEROCOCOS – ALIMENTOS – CARÇAÇAS DE FRANGO	Página 1/11

ANEXO 1

MEIOS DE CULTURA

ÁGUA PEPTONADA TAMPONADA 1% (APT)

Peptona	10,0g
NaCl	5,0g
Fosfato dissódico (Na_2HPO_4)	3,5g
Fosfato monopotássico (KH_2PO_4)	1,5g
Água destilada	1 litro

Preparação: dissolver os ingrediente, ajustar o Ph 7,2 +/- 0,2 e esterilizar a 121°C/15minutos.

ÁGAR BILE ESCULINA

Extrato de carne	3,0g
Peptona	5,0g
Sais biliares	40,0g
Esculina	1,0g
Citrato férrico.....	0,5g
Ágar	15,0g
Água destilada.....	1 litro
Ph final:	6,6.

Preparação dissolver os ingredientes, ajustar o pH e aquecer até a completa fusão do ágar. Distribuir em tubos de 12 x 120 mm, esterilizar a 121°C/15 min e inclinar.

CALDO ENTEROCOCCOSEL

Caseína (digestão pancreática)	17,0g
Peptídeo	3,0g
Extrato de levedura	5,0g
Oxagal	10,0g
Cloreto de sódio.....	5,0g
Citrato de sódio	1,0g
Esculina	1,0g
Citrato de ferro amoniacal.....	0,5g
Azida sódica	0,25g
Água destilada.....	1 litro

CÓPIA NÃO CONTROLADA



TÍTULO:	DETECÇÃO DE ENTEROCOCOS EM CARÇAÇAS DE FRANGO CONGELADAS	Número
		Revisão
PALAVRA-CHAVE	ENTEROCOCOS – ALIMENTOS – CARÇAÇAS DE FRANGO	Página 1/11

Preparação: Dissolver os ingredientes, ajustar o Ph 7,1 +/- 0,2 e esterilizar a 121°C/15min.

ÁGAR ENTEROCOCCOSEL

ágar	
Caseína (digestão pancreática)	17,0g
Peptídeo	3,0g
Extrato de levedura	5,0g
Oxagal	10,0g
Cloreto de sódio.....	5,0g
Citrato de sódio	1,0g
Esculina	1,0g
Citrato de ferro amoniacal.....	0,5g
Azida sódica	0,25g
Água destilada.....	1 litro

Preparação: Dissolver os ingredientes, ajustar o Ph 7,1 +/- 0,2 e esterilizar a 121°C/15min. Distribuir em placas de Petri estéreis e identificar o meio de cultura na placa. Manter em geladeira por no máximo 15 dias.

CALDO ENTEROCOCCOSEL COM VANCOMICINA (6µg/mL)

Adicionar em 225 ml do caldo 0,54 ml de vancomicina preparada na concentração 2.500 µg/mL. Homogeneizar o meio de cultura.

Nota: adicionar a solução de vancomicina, no meio de cultura, somente no dia que será feita a pesquisa de Enterococo na carcaça do frango.

ÁGAR ENTEROCOCCOSEL COM VANCOMICINA (6µg/mL)

Preparar 150 ml da base e quando o ágar atingir a temperatura de 45 – 50°C adicionar 0,4 mL de vancomicina preparada na concentração de 2.500 µg/mL. Identificar o meio de cultura na placa.

Nota: preparar o meio de cultura próximo a data de uso e mantê-lo sempre em geladeira por no máximo 15 dias e embrulhado para evitar ressecamento.

CALDO INFUSÃO CÉREBRO CORAÇÃO (BHI)

Infusão de cérebro de bezerro	200,0g
-------------------------------------	--------

CÓPIA NÃO CONTROLADA



TÍTULO:	DETECÇÃO DE ENTEROCOCOS EM CARÇAÇAS DE FRANGO CONGELADAS	Número
		Revisão
PALAVRA-CHAVE	ENTEROCOCOS – ALIMENTOS – CARÇAÇAS DE FRANGO	Página 1/11

Infusão de coração de boi2	50,0g
Proteose peptona	10,0g
Dextrose	2,0g
Cloreto de sódio.....	5,0g
Fosfato dissódico (Na ₂ HPO ₄)	2,5g
Água destilada	1 litro

Preparação: Dissolver os ingredientes, ajustar o Ph 7,4 distribuir 90 ML em frascos de 250 ML de capacidade e esterilizar a 121°C/15min.

CALDO INFUSÃO CÉREBRO CORAÇÃO (BHI) com 6,5% de NaCl

Infusão de cérebro de bezerro	200,0g
Infusão de coração de boi	250,0g
Proteose peptona	10,0g
Dextrose	2,0g
Cloreto de sódio.....	65,0g
Fosfato dissódico (Na ₂ HPO ₄)	2,5g
Água destilada	1 litro

Preparação: Pesar 37,0g do meio desidratado "Brain Heart Infusion Broth", acrescentar 65g de NaCl e 1 litro de água fria. Aquecer, agitando freqüentemente, até completa dissolução do meio. Distribuir 5 mL em tubos de 12 mm x 120mm. Esterilizar a 121°/15min.

CÓPIA NÃO CONTROLADA



TÍTULO:	DETECÇÃO DE ENTEROCOCOS EM CARÇAÇAS DE FRANGO CONGELADAS	Número
		Revisão
PALAVRA-CHAVE	ENTEROCOCOS – ALIMENTOS – CARÇAÇAS DE FRANGO	Página 1/11

ANEXO 2

SOLUÇÕES E REAGENTES

ÁCIDO CLORÍDRICO 1N

Ácido clorídrico concentrado.....89 ml
 Água destilada q.s.p. 1000 mL
 Esterilizar em autoclave a 121°C/15 min. Estocar à temperatura ambiente.

HIDRÓXIDO DE SÓDIO 1N

Hidróxido de sódio..... 40g
 Água destilada q.s.p. 1000 mL
 Esterilizar em autoclave a 121°C/15 min. Estocar à temperatura ambiente.

PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO 3%

Peróxido de hidrogênio 30%3,0 mL
 Água destilada.....completar para100 mL

Preparação: dissolver a água oxigenada 30% em água destilada, completando volume para 100 mL. Cuidado! O peróxido de hidrogênio a 30% pode provocar queimaduras dolorosas, devendo ser manuseado com luvas e óculos protetores. Em caso de respingos na pele, lavar com etanol 70% em abundância. Não lavar com água.

REAGENTES PARA COLORAÇÃO DE GRAM

SOLUÇÃO DE CRISTAL VIOLETA DE HUCKER

Solução A
 Cristal violeta (90% pureza)..... 2,0g
 Etanol 95%..... 20,0 mL

Solução B
 Oxalato de amônio monohidratado..... 0,2g
 Água destilada..... 20,0 mL

CÓPIA NÃO CONTROLADA



TÍTULO:	DETECÇÃO DE ENTEROCOCOS EM CARÇAÇAS DE FRANGO CONGELADAS	Número
		Revisão
PALAVRA-CHAVE	ENTEROCOCOS – ALIMENTOS – CARÇAÇAS DE FRANGO	Página 1/11

Misturar as soluções A e B, deixar em repouso por 24h e filtrar em papel de filtro comum. Estocar em frasco escuro.

SOLUÇÃO DE IODO (LUGOL)

Iodo..... 1,0g
 Iodeto de potássio (KI) 2,0g
 Água destilada..... 300 mL

Colocar o iodeto de potássio num almofariz, adicionar o iodo e homogeneizar com pistilo. Adicionar, porções de 1 mL, 5 mL e 10 mL de água destilada, homogeneizando a solução após cada adição. Em seguida, transferir a solução para um frasco escuro, lavando o almofariz e o pistilo com o restante da água destilada.

SOLUÇÃO DE SAFRANINA

Safranina O..... 0,25g
 Etanol 95%..... 10,0 mL
 Água destilada..... 100,0 mL

Dissolver a safranina no álcool e adicionar a solução resultante aos 100 mL de água destilada. Estocar em frasco escuro.

SOLUÇÃO DE VANCOMICINA

Preparar a solução de vancomicina, distribuir em alíquotas para uso e manter em freezer -20°C por até 6 meses. Descongelar somente a alíquota para o uso e a sobra deve ser desprezada.

Nota: importante verificar antes do uso a potência do antibiótico, que varia a cada lote de purificação.

Cálculo para preparo da solução

Exemplo: Sigma : V-2002 Potência : 1.132 µg/mL

Cálculo usando a fórmula :

$$\text{Peso} = \frac{\text{Volume} \times [\text{ }]' \mu\text{g/mL}}{\text{Potência}}$$

$$P = \frac{50 \text{ mL} \times 2.500 \mu\text{g/mL}}{1.132 \mu\text{g/mg}} = \frac{125.000 \mu\text{g}}{1.132 \mu\text{g} / \text{mg}} = 110.42 \text{ mg} = 0,11 \text{ g/50 mL de H}_2\text{O estéril}$$

Preparo das alíquotas

CÓPIA NÃO CONTROLADA





TÍTULO:	DETECÇÃO DE ENTEROCOCOS EM CARCAÇAS DE FRANGO CONGELADAS	Número
		Revisão
PALAVRA-CHAVE	ENTEROCOCOS – ALIMENTOS – CARCAÇAS DE FRANGO	Página 1/11

Preparar líquotas e 0,7 mL para serem utilizadas tanto para o preparo do caldo Enterococcosel como para o preparo das placas de ágar.

CÓPIA NÃO CONTROLADA



	<p style="text-align: center;">INSTITUTO ADOLFO LUTZ</p> <p style="text-align: center;">REGISTRO DA QUALIDADE</p>		
NÚMERO ASMI5-01	MANUTENÇÃO DE CEPA DE ENTEROCOCO PARA SER ENVIADA AO LABORATÓRIO DE REFERÊNCIA	REVISÃO 01	Página 12 / 6

SUMÁRIO

1. OBJETIVO	1
2. CAMPO DE APLICAÇÃO	1
3. REFERÊNCIAS	1
3.1 Normativas	1
3.2 Complementares	1
3.3 Cruzadas	1
4. DEFINIÇÕES E SIGLAS	2
5. PROCEDIMENTO	2
5.1 Equipamentos, vidraria, material	2
5.2 Meios de Cultura	2
5.3 Procedimento	2

1. OBJETIVO

Estabelecer as condições e procedimentos para a manutenção de cepas de *Enterococcus* sp no laboratório até o envio para o laboratório de referência.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO:

Aplica-se ao Programa Nacional de Monitoramento da Prevalência e da Resistência Bacteriana em Frango (IAL / ANVISA) e visa uniformizar as metodologias de análise para os laboratórios participantes.

3. REFERÊNCIAS:

3.1 Normativas

Não se aplica

3.2 Complementares:

Facklan, R.R.; Sahm, D.F.; Teixeira, M.M. *Enterococcus*. In: Murray, P.R.; Baron, E.J.; Tenover, F.V.; Tenover, F.V.; Tenover, F.V.; Tenover, R.H. (ed). Manual of Clinical Microbiology, 7th edition. American Society for Microbiology, Washington, 199: p.297-305.



3.3 Cruzadas:

POP: Detecção de Enterococos em Carcaças Congeladas de Frango

	DATA	NOME
ELABORAÇÃO		Rosemeire Cobo Zanella
REVISÃO		Glória Regina Freitas do Valle
APROVAÇÃO		

CÓPIA CONTROLADA – REPRODUÇÃO PROIBIDA



	INSTITUTO ADOLFO LUTZ REGISTRO DA QUALIDADE		
NÚMERO ASMI5-01	MANUTENÇÃO DE CEPA DE ENTERO- COCO PARA SER ENVIADA AO LABO- RATÓRIO DE REFERÊNCIA	REVISÃO 01	Página 2 / 6

ANEXO 1 – Meios de cultura para detecção de Enterococos em Carcaça de Frango.

4. DEFINIÇÕES E SIGLAS

IAL – Instituto Adolfo Lutz
ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BHI – Brain heartinfusion (infusão de cérebro e coração)
cepa – cultura pura do crescimento bacteriano.

5. PROCEDIMENTO

5.1 Equipamentos, vidraria, material

- a) placa de Petri;
- b) erlemeyer com capacidade de 500ml;
- c) tubos de 16 x 160 mm;
- d) estufa bacteriológica a 35
- e) swab estéril, com haste flexível e embalados individualmente;
- f) pipetas graduadas de 5, 10 e 25ml;
- g) geladeira;
- h) tubos criogênicos de 2,0 ml estéreis

Nota: todo o material deve ser esterilizado em forno Pasteur a 170°C / 2 horas.

5.2 Meios de Cultura

- a) ágar BHI
- b) meio de Amies sem carvão (meio de transporte)

5.3 Procedimento

A partir da análise confirmatória de *Enterococcus* das amostras de frango, proceder a manutenção das cepas para o envio ao laboratório de referência.



5.3.1. Manutenção da cepa.

Após obtenção do resultado da análise confirmatória do gênero Enterococos, selecionar 2 colônias isoladas do ágar Enterococcosel sem vancomicina e 2

	DATA	NOME
ELABORAÇÃO		Rosemeire Cobo Zanella
REVISÃO		Glória Regina Freitas do Valle
APROVAÇÃO		

CÓPIA CONTROLADA – REPRODUÇÃO PROIBIDA



	INSTITUTO ADOLFO LUTZ REGISTRO DA QUALIDADE		
NÚMERO ASMI5-01	MANUTENÇÃO DE CEPA DE ENTEROCOCO PARA SER ENVIADA AO LABORATÓRIO DE REFERÊNCIA	REVISÃO 01	Página 3 / 6

Encaminhadas para o Laboratório de Referência. A partir do crescimento obtido em ágar bile-esculina, fazer um repique da cepa em tubo de ágar BHI e após o período de incubação a 35-36°C por 18-24hs. Manter a cepa corretamente identificada em geladeira até o encaminhamento para o laboratório de referência. Não exceder 1 mês.

Nota: identificar corretamente as colônias isoladas do ágar Enterococcosel sem e com vancomicina.

5.3.2. Preparo da cepa para encaminhamento ao Laboratório de Referência.

A partir do tubo de ágar BHI semear a cepa, com swab, em placa de ágar BHI e incubar a 35-36°C por 18-24hs. Coletar todo o crescimento com auxílio de um swab e introduzi-lo no meio Amies, quebrar ou cortar a haste do swab que fica para fora do tubo, fechar, vedar e identificar adequadamente cada cepa no próprio tubo.

Manter o tubo pronto em temperatura ambiente até o envio para o Laboratório de Referência, este período não deve ultrapassar 3 dias. Encaminhar a cepa segundo o PSMIB2-01 – TRANSPORTE DE SUBSTÂNCIAS INFECCIOSAS PARA O LABORATÓRIO DE REFERÊNCIA.

ANEXO A



ANEXO A

MEIOS DE CULTURA

	DATA	NOME
ELABORAÇÃO		Rosemeire Cobo Zanella
REVISÃO		Glória Regina Freitas do Valle
APROVAÇÃO		

CÓPIA CONTROLADA – REPRODUÇÃO PROIBIDA



	INSTITUTO ADOLFO LUTZ REGISTRO DA QUALIDADE		
NÚMERO ASMI5-01	MANUTENÇÃO DE CEPA DE ENTERO- COCO PARA SER ENVIADA AO LABO- RATÓRIO DE REFERÊNCIA	REVISÃO 01	Página 4 / 6

ÁGAR BHI (INFUSÃO DE CÉREBRO E CORAÇÃO)

Meio Base:

Infusão de cérebro	200 g
Infusão de coração.....	250 g
Proteose Peptona	10 g
Bacto dextrose	2 g
Cloreto de sódio.....	5 g
Fosfato di-básico de sódio.....	2,5 g
Ágar	15 g
Água destilada.....	1 l
pH final 7,4 +/- 0,2 a 25°C	

Preparar a base conforme instrução do fabricante. Autoclavar 15 minutos/121°C. Dispensar em tubos de 16x160 mm o volume de 10 ml e manter o tubo deitado e inclinado até sua solidificação e preparar placas com aproximadamente 20 ml de meio de cultura.

Fazer controle de esterilidade, incubando por 24 e 48hs a 37°C. Rotular e datar.

Estocar a 4°C, devidamente armazenado.

Validade de aproximadamente 15 dias.

/ANEXO A - Cont.

ANEXO A - Cont.

MEIO AMIES SEM CARVÃO PARA TRANSPORTE DE CEPA



Meio base:

Cloreto de sódio 3g

	DATA	NOME
ELABORAÇÃO		Rosemeire Cobo Zanella
REVISÃO		Glória Regina Freitas do Valle
APROVAÇÃO		

CÓPIA CONTROLADA – REPRODUÇÃO PROIBIDA



	INSTITUTO ADOLFO LUTZ REGISTRO DA QUALIDADE		
NÚMERO ASMI5-01	MANUTENÇÃO DE CEPA DE ENTEROCOCO PARA SER ENVIADA AO LABORATÓRIO DE REFERÊNCIA	REVISÃO 01	Página 5 / 6

Cloreto de potássio	0,2g
Cloreto de cálcio	0,1g
Cloreto de magnésio	0,1g
Fosfato monobásico de potássio.....	0,2g
Fosfato di-básico de sódio.....	1,15g
Tioglicolato de sódio	1g
Bacto ágar	7,5g
Água destilada.....	1L

pH final 7,3 +/- 0,1 a 25°C

Preparar a base conforme instrução do fabricante. Autoclavar 15 minutos/121°C.
 Dispensar 1,5 ml do meio nos tubos criogênicos, tampar e manter o tubo em pé até sua solidificação.
 Fazer controle de esterilidade, incubando por 24 e 48hs a 37°C. Rotular e datar.
 Estocar a 4°C, devidamente armazenado por 30 dias.

ANEXO B

ANEXO B

PROGRAMA NACIONAL DE MONITORAMENTO DA PREVALÊNCIA E DA RESISTÊNCIA BACTERIANA
EM FRANGO

Formulário para o envio dos isolados de *Enterococcus* sp

	DATA	NOME
ELABORAÇÃO		Rosemeire Cobo Zanella
REVISÃO		Glória Regina Freitas do Valle
APROVAÇÃO		

CÓPIA CONTROLADA – REPRODUÇÃO PROIBIDA



	INSTITUTO ADOLFO LUTZ REGISTRO DA QUALIDADE	
NÚMERO ASMI5-01	MANUTENÇÃO DE CEPA DE ENTERO-COCO PARA SER ENVIADA AO LABORATÓRIO DE REFERÊNCIA	REVISÃO 01
		Página 6 / 6

Laboratório Estado Responsável Rubrica

Nº da amostra do LACEN	Número do laudo	Unidade da amostra	Nº do isolado do LACEN	Meio de isolamento	Identificação (preenchido pelo Lab. De Referência)	Observações
			E Ea	sem vancomicina		
		A	E Eb	sem vancomicina		
			E Ec	com vancomicina		
			E Ed	com vancomicina		
			E Ba	sem vancomicina		
		B	E Bb	sem vancomicina		
			E Bc	sem vancomicina		
			E Bd	sem vancomicina		
			E Ca	sem vancomicina		
		C	E Cb	sem vancomicina		
			E Cc	sem vancomicina		
			E Cd	sem vancomicina		
			E Da	sem vancomicina		
		D	E Db	sem vancomicina		
			E Dc	com vancomicina		
			E Dd	sem vancomicina		
			E Ea	sem vancomicina		
		E	E Eb	sem vancomicina		
			E Ec	sem vancomicina		
			E Ed	sem vancomicina		

A ser preenchido pelo Laboratório de Referência:

Data:

Assinatura do responsável:

	DATA	NOME
ELABORAÇÃO		Rosemeire Cobo Zanella
REVISÃO		Glória Regina Freitas do Valle
APROVAÇÃO		

CÓPIA CONTROLADA – REPRODUÇÃO PROIBIDA



TÍTULO	Transporte de substâncias infecciosas para o Laboratório de Referência (Território Nacional)	Número: PSMIB2-01
PALAVRAS-CHAVE	Transporte, Material infeccioso	Revisão: 00 Página: 1/5

SUMÁRIO

1. OBJETIVO:.....	1
2. CAMPO DE APLICAÇÃO.....	1
3. REFERÊNCIAS	1
3.1 Normativas	1
3.2 Complementares.....	2
3.3 Cruzadas:.....	2
4. DEFINIÇÕES E SIGLAS.....	2
5. PROCEDIMENTO:	2
5.1 Equipamentos.....	2
5.2 Procedimento:.....	3
5.3 Formulários e documentos para remessa	4

CONTROLE DAS ALTERAÇÕES:

1.OBJETIVO:

Estabelecer as condições e procedimentos para o transporte de material biológico para o Laboratório de Referência.

2.CAMPO DE APLICAÇÃO

Aplica-se ao Programa Nacional de Monitoramento de *Enterococcus* em carcaças congeladas de frango (IAL/ANVISA) e visa uniformizar as metodologias que serão empregadas pelos laboratórios participantes.

3.REFERÊNCIAS

3.1 Normativas

	DATA	NOME
ELABORAÇÃO		Rosemeire Cobo Zanella
REVISÃO		Glória Regina Freitas do Valle
APROVAÇÃO		

CÓPIA CONTROLADA – REPRODUÇÃO PROIBIDA



	SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE COORDENAÇÃO DOS INSTITUTOS DE PESQUISA	
--	----------------------------------------------------------------------------	--

TÍTULO	Transporte de substâncias infecciosas para o Laboratório de Referência (Território Nacional)	Número: PSMIB2-01
PALAVRAS-CHAVE	Transporte, Material infeccioso	Revisão: 00 Página: 2/5

2.2 Complementares

Guia para transporte seguro de substâncias infecciosas e material de diagnóstico da OMS (WHO/EMC/97.3)

Regulamento de cargas perigosas (IATA seção 5, instrução 602 e 650)

Portaria nº 1985, de 25 de outubro de 2001- Regulamento técnico para o transporte de substâncias infecciosas e amostras para o diagnóstico, no MERCOSUL.

Recomendações do Comitê de Especialistas das Nações Unidas para o Transporte de Artigos Perigosos.

Portaria Nº 271E/SPL, de 1º de julho de 1998.

3.3 Cruzadas:

PSMIB2-02 – Manutenção de cepa de *Enterococcus* isolada de carcaça de frango para encaminhamento ao Laboratório de Referência.

4. DEFINIÇÕES E SIGLAS

IAL - Instituto Adolfo Lutz

INCQS - Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

IATA - International Air Transport Association

OMS – Organização Mundial da Saúde

Substâncias infecciosas: São aquelas que contêm microorganismos viáveis, tais como bactérias, rickettsias, vírus, parasitas, fungos ou um microorganismo recombinante, híbrido ou mutante que sabidamente ou com probabilidade razoável é capaz de provocar doenças no homem e nos animais, segundo WHI/EMC/97.3.

Amostra para diagnóstico: Definida como qualquer material humano ou animal que incluem, porém não se limitam a: excrementos, secreções, sangue e seus derivados, tecidos e líquidos orgânicos, e que são coletados para fins de diagnósticos: se excluem os animais infectados vivos.

Laboratórios de Referência: Os Laboratórios que receberão as amostras biológicas para análises.



5. PROCEDIMENTO:

5.1 Equipamentos.

Caixa para transporte de substâncias infecciosas de acordo com: "Guia para transporte seguro de substâncias infecciosas e material de diagnóstico da OMS".

CÓPIA CONTROLADA – REPRODUÇÃO PROIBIDA



	SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE COORDENAÇÃO DOS INSTITUTOS DE PESQUISA	
-----------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------

TÍTULO	Transporte de substâncias infecciosas para o Laboratório de Referência (Território Nacional)	Número: PSMIB2-01
PALAVRAS-CHAVE	Transporte, Material infeccioso	Revisão: 00
		Página: 3/5

5.2 Procedimento:

As amostras acondicionadas e identificadas deverão ser embaladas em caixas específicas para transporte de amostras biológicas, segundo: "Guia para transporte seguro de substâncias infecciosas e material de diagnóstico (WHO/EMC/97.3) e "Regulamento de cargas perigosas" (IATA seção 5, instrução 602 e 650).

O encaminhamento das amostras deve ser feito de forma segura e eficaz e no menor espaço de tempo para a entrega aos Laboratórios de Referência.

Laboratório de Referência para *Salmonella*:
Dalia dos P. Rodrigues
Laboratório de Enterobactérias
Instituto Oswaldo Cruz-FIOCRUZ
Av. Brasil, 4365 - Pav. Rocha Lima - 3o. andar
Manguinhos- Rio de Janeiro -RJ
CEP: 21.045-900
Tel # 0 xx 21 2598-4277 R 316
Fax # 0 xx 21 2270-1599 R 331

Laboratório de Referência para *Enterococcus*:
Instituto Adolfo Lutz
Avenida Dr Arnaldo, 355 / 9º andar – Cerqueira Cezar
CEP: 01246-902 – São Paulo – SP
Tel.: (xx11) 3068-2894
Fax: (xx11) 3085-3505
Contato: Dra Rosemeire Zanella
email: cobo@ial.sp.gov.br

5.2.1. Responsabilidades do procedimento:

O transporte de substâncias infecciosas e amostras biológicas para análise em laboratórios habilitados pelos Ministérios da Saúde, estabelece responsabilidades para o remetente e o destinatário.

CÓPIA CONTROLADA – REPRODUÇÃO PROIBIDA



	SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE COORDENAÇÃO DOS INSTITUTOS DE PESQUISA	
--	----------------------------------------------------------------------------	--

TÍTULO	Transporte de substâncias infecciosas para o Laboratório de Referência (Território Nacional)	Número: PSMIB2-01
PALAVRAS- CHAVE	Transporte, Material infeccioso	Revisão: 00 Página: 4/5

Do Remetente:

Com antecedência contatar com o destinatário (laboratório) para as providências necessárias para o recebimento e processamento das amostras.

O envio será acertado através do transporte mais adequado.

O envio deverá ser feito pela rota mais direta e evitando sua chegada nos finais de semana e feriados no destino.

Embarcar e identificar a substância infecciosa ou a amostra biológica para análise laboratorial, seguindo padrões de biossegurança estabelecidas nas "Recomendações do Comitê de Especialistas das Nações Unidas para o Transporte de Artigos Perigosos".

Do destinatário:

- Notificar imediatamente ao remetente a chegada do material enviado.

5.2.2. Embalagem e rótulo

Deverá ser realizado de acordo ao prescrito no documento:

"DANGEROUS GOODS REGULATIONS" 40 th Edition – 1 January 1999.



International Air Transport Association (I.A.T.A.) Section 5 – Packing – Instruction Nº 602 y Nº 650.

5.3. Formulários e documentos para remessa

As remessas de substâncias infecciosas e/ou biológicas para análise laboratorial entre serviços de saúde, pesquisas e profissionais de saúde, devem ser acompanhada da declaração de transporte de carga perigosa impressa em duas vias e em papel timbrado da instituição remetente, conforme modelo.

CÓPIA CONTROLADA – REPRODUÇÃO PROIBIDA



	SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE COORDENAÇÃO DOS INSTITUTOS DE PESQUISA	
-----------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------

TÍTULO	Transporte de substâncias infecciosas para o Laboratório de Referência (Território Nacional)	Número: PSMIB2-01
PALAVRAS-CHAVE	Transporte, Material infeccioso	Revisão: 00
		Página: 5/5

ANEXO A
EXEMPLO
PAPEL TIMBRADO

São Paulo, 31 de julho de 2000

DECLARAÇÃO

Ao Correio -Nome da cidade

Destinatário:

Dra. Rosemeire Cobo Zanella
Bacteriologia
Instituto Adolfo Lutz
Av. Dr. Arnaldo 351
São Paulo, SP CEP: 01246 – 902

Remetente:

Dr. Fulano de Tal
Laboratório Central do Estado XXXX
Endereço Completo

Declaramos que estamos enviando material biológico, não comerciável, não explosivo e não volátil para complementação científica necessária no Serviço de Saúde, sendo de uso exclusivo de pesquisa.

Trata-se de bactéria acondicionada em meio de transporte específico e contido em XX frascos devidamente fechados e acondicionados.

A embalagem contendo os frascos não deve ser aberta a fim de se evitar que se quebre e ocorra perda do material.

Atenciosamente,

Nome do responsável - No do CRBM/ CRB/ CRF
Encarregada Setor Técnico
Seção de Bacteriologia
Lacen XXXXX

	DATA	NOME
ELABORAÇÃO		Rosemeire Cobo Zanella
REVISÃO		Glória Regina Freitas do Valle
APROVAÇÃO		

CÓPIA CONTROLADA – REPRODUÇÃO PROIBIDA



Ministério da Saúde

Fundação Oswaldo Cruz



Dep. Bacteriologia – Laboratório de Enterobactérias

Av. Brasil, 4365 – Pav Rocha Lima – Manguinhos – RJ – CEP 21.045-900

TEL # 0 XX 21 2598-4277 / 2270-1590 R 316 FAX # XX 21 2270-1599 R 331

Procedimentos Operacionais Padrão

Laboratório de Enterobactérias

TITULO DA ATIVIDADE: Encaminhamento das cepas de *Salmonella* spp, para caracterização antigênica e avaliação da suscetibilidade antimicrobiana

1. OBJETIVO

Estabelecer as condições e procedimento para o transporte das cepas de *Salmonella* sp. para o LABENT – IOC – FIOCRUZ – Laboratório de Referência em *Salmonella* sp.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO

Aplica-se ao Programa Nacional de Monitoramento da Prevalência da Resistência bacteriana em Frango.

3. NÍVEL DE BIOSSEGURANÇA COM RECOMENDAÇÕES PARA A ATIVIDADE

Nível de Biossegurança 2, na etapa de semeadura das cepas em Agar tamponado.

4. DEFINIÇÕES E SIGLAS

LABENT- Laboratório de Enterobactérias

IOC – Instituto Oswaldo Cruz

FIOCRUZ – Fundação Oswaldo Cruz

IATA – International Air Transport Association

OMS – Organização Mundial de Saúde

INCQS – Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde



Ministério da Saúde

Fundação Oswaldo Cruz



Dep. Bacteriologia – Laboratório de Enterobactérias

Av. Brasil, 4365 – Pav Rocha Lima – Manguinhos – RJ – CEP 21.045-900

TEL # 0 XX 21 2598-4277 / 2270-1590 R 316 FAX # XX 21 2270-1599 R 331

5. CONDIÇÕES GERAIS

5.1) Material e Equipamentos

- a) tubos de poliestireno com capacidade de 2 mL;
- b) caixas para transporte de material para diagnóstico laboratorial, OMS/IATA;
- c) estufa bacteriológica a 30-35°C.

5.2) Meio de cultura (Anexo A)

- a) Ágar nutriente tamponado.

6. CONDIÇÕES ESPECÍFICAS

Os isolados obtidos através da metodologia descrita no POP (65.3210.044) - "Pesquisa e Contagem de *Salmonella* sp em Carcaças Congeladas de Frango" (INCQS / FIOCRUZ), devem ser encaminhados ao LABENT – IOC – FIOCRUZ – Laboratório de Referência para *Salmonella* sp, através dos procedimentos estabelecidos neste POP.

A cepa identificada presuntivamente como *Salmonella* spp., não deverá ser submetida a sub-cultivos.

Não utilizar meios de cultura que contenham carboidratos.

6.1 - Semeadura no meio de transporte

Semear cada uma das cepas identificadas em um tubo de poliestireno contendo 1,5 mL de ágar nutriente tamponado, efetivando duas a três picadas em profundidade e estriamento em superfície.

Incubar a 37°C por 18-24 horas.

Após este período manter em temperatura ambiente, ao abrigo da luz solar.

Identificar o tubo de acordo com "Formulário para o Envio dos Isolados de *Salmonella* sp", em anexo.



Ministério da Saúde

Fundação Oswaldo Cruz



Dep. Bacteriologia – Laboratório de Enterobactérias

Av. Brasil, 4365 – Pav Rocha Lima – Manguinhos – RJ – CEP 21.045-900

TEL # 0 XX 21 2598-4277 / 2270-1590 R 316 FAX # XX 21 2270-1599 R 331

6.2 - Controle de qualidade interno (cepas padrão)

Deverá ser efetivado no meio de cultura utilizado, empregando cepa de *Salmonella* spp., visando garantir a qualidade dos resultados presuntivos efetivados

6.3 – Preparo do isolado para encaminhamento ao Laboratório de Referência

O encaminhamento das cepas deverá ser efetivado, com o máximo de intervalo, mensalmente.

Os isolados devidamente acondicionados e identificados deverão ser embalados em caixas específicas para o transporte de cepas para diagnóstico laboratorial, de acordo: “Guia para transporte seguro de substâncias infecciosas e materiais de diagnóstico da OMS” (WHO/EMC/97.3) e “Regulamento de cargas perigosas” (IATA seção 5, instrução 602 e 650) e Espécimes para diagnóstico devem ser assinaladas com o código IATA UM 3373.

6.4 - Detalhes do processamento

Todos os isolados deverão possuir identificação, compatível com o “Formulário para o Envio dos Isolados de *Salmonella* sp”, encaminhado em anexo.

7– RESPONSABILIDADE DO PROCEDIMENTO

O transporte de substâncias infecciosas em laboratórios habilitados pelo Ministério da Saúde estabelece responsabilidade para o remetente e o destinatário.



Ministério da Saúde

Fundação Oswaldo Cruz



Dep. Bacteriologia – Laboratório de Enterobactérias

Av. Brasil, 4365 – Pav Rocha Lima – Manguinhos – RJ – CEP 21.045-900

TEL # 0 XX 21 2598-4277 / 2270-1590 R 316 FAX # XX 21 2270-1599 R 331

Do remetente:

Com antecedência contactar com o destinatário (laboratório) para as providências necessárias para o recebimento e processamento das amostras.

O envio deverá ser efetivado mensalmente através do transporte mais adequado, na região.

O envio deverá ser feito pela a rota mais direta e evitando sua chegada nos finais de semana e feriados no destino.

Embarcar e identificar a substância infecciosa ou amostra biológica para análise laboratorial, seguindo padrões de Biossegurança estabelecidas nas “Recomendações do Comitê de Especialistas das Nações Unidas para o Transporte de Artigos Perigosos”.

Do destinatário:

Notificar imediatamente ao remetente a chegada do material enviado.

8. SOLUÇÃO DE POSSÍVEIS PROBLEMAS

Caso não ocorra o crescimento no meio a ser empregado para manutenção e envio das cepas, repetir o procedimento de repique a partir do meio original de crescimento.

A empresa de transporte precisa entrar em contato com o remetente e o destinatário, além de informar as autoridades de saúde pública toda vez que uma remessa contendo substâncias infecciosas for danificada durante o transporte.

9. EMBALAGENS E RÓTULO

Deverá ser realizado de acordo ao prescrito no documento: “DANGEROUS GOODS REGULATIONS” 40th Edition – 1 January 1999. International Air Transport Association (IATA); Section5 – Packing - Instruction N° 602 and N° 650, as quais devem apresentar as seguintes informações:

- Especificação da amostra;
- Nível de Biossegurança;
- Rótulo avisando perigo biológico;





- Rótulo com o endereço do remetente e destinatário, inclusive telefone de contato.

10. FORMULÁRIOS E DOCUMENTOS PARA REMESSA

As remessas de substâncias infecciosas e/ou biológicas para análise laboratorial entre serviços de saúde, pesquisas e profissionais de saúde, devem ser acompanhadas da declaração de transportes de cargas perigosas impressa em duas vias em papel timbrado da Instituição remetente, conforme o modelo.

11. REGISTRO DE PROCESSAMENTO E RESULTADOS

Todas as cepas encaminhadas deverão conter no laboratório de origem o mesmo registro efetivado no encaminhamento.

12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Costa, G.A. & Hofer, E.. Isolamento e identificação de enterobactérias. Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 120 pp., 1972

Ewing, W. H.. Edward's & Ewing's Identification of Enterobacteriaceae. 4th Ed., Elsevier Sci. Publ Co. Inc. New York .536 pp., 1986.

Grist, N.R. Manual de Biossegurança para Laboratórios. 2^a Ed. edição, Livraria Ed. Santos, pag. 48-54, 1995.

PESQUISA e Contagem de *Salmonella* sp em Carcaças Congeladas de Frango. In: MANUAL da Qualidade. Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ. Seção 10 (65.3210.044)



Ministério da Saúde

Fundação Oswaldo Cruz



Dep. Bacteriologia – Laboratório de Enterobactérias

Av. Brasil, 4365 – Pav Rocha Lima – Manguinhos – RJ – CEP 21.045-900

TEL # 0 XX 21 2598-4277 / 2270-1590 R 316 FAX # XX 21 2270-1599 R 331

ANEXO A

MEIO DE CULTURA

1) Agar nutriente tamponado

Agar nutriente	23 g
Cloreto de sódio.....	5 g
Fosfato de sódio dibásico	2 g
Água destilada.....	1000 mL

Suspender os componentes na água destilada. Dissolver sob agitação até a total dissolução do Agar.

Distribuir alíquotas de 1,5 mL em tubos de poliestireno.

Esterilizar a 121° C por 15 minutos.

Após a esterilização inclinar os tubos para a solidificação do ágar.

pH final 7,0 – 7,2



Programa Nacional de Monitoramento da Prevalência e da Resistência Bacteriana em Frango – PREBAF – Equipe Técnica

Equipe de coordenação geral – GGALI/ANVISA

- Lucas Medeiros Dantas – GACTA/GGALI (Coordenador)
- Francisco Roberto Gomes Cardoso - GACTA/GGALI (Até junho 2006)
- Denilson da Silva Santos - GACTA/GGALI (a partir de junho 2006)
- Paula Roberta Mendes - GACTA/GGALI (a partir de setembro 2006)
- Angela Karinne Fagundes de Castro – GICRA/GGALI
- Rosane Maria Franklin Pinto - GICRA/GGALI
- Karem Gomes Modernell - GICRA/GGALI
- Laura Misk de Faria Brant - GICRA/GGALI

Equipe de coordenação técnica - INCQS/FIOCRUZ (Até abril/2005)

- Márcia Barbosa Warnken

Equipe de coordenação técnica - GGLAS/ANVISA (A partir de abril/2005)

- André Luiz Oliveira da Silva
- Lara Cristiane Tenório

Equipe do Laboratório do IOC/FIOCRUZ

- Dália dos Prazeres Rodrigues (coordenadora)
- Norma dos Santos Lazaro
- Eliane Moura Falavina dos Reis
- Wanderson Clay Porcino da Silva
- Renata Garcia Costa

Equipe do Laboratório do IAL/SP

- Rosemeire Cobo Zanella (coordenadora)
- Miyoko Jakabi
- Marisa de Jesus de Castro Lima

Colaboradores:

- Ricardo Titze – Universidade de Brasília (UnB)
- Ângela Patrícia Santana – Universidade de Brasília (UnB)



LISTA DOS PARTICIPANTES DO PREBAF – POR ESTADO

ALAGOAS

DIREÇÃO GERAL DO LACEN/AL:
Telma Machado Lisboa Pinheiro

GERENTE DE CONTROLE DA QUALIDADE DE PRODUTOS:
Everaldo Queiroz de Campos Júnior

EQUIPE EXECUTORA:

- Anna Cristina Costa Moreira da Silva – LACEN/AL
- Celi Silva do Nascimento – LACEN/AL
- Elaine Cristina Pereira Barros – LACEN/AL
- Ernande Rodrigues Leite Filho – LACEN/AL
- Maria Tânia Bezerra Guedes – VISA/AL
- Nadja Celina Cavalcante – LACEN/AL
- Paulo Costa Pereira – LACEN/AL
- Rejane Barros Cavalcante – LACEN/AL

AMAPÁ

EQUIPE TÉCNICA

- Emi Toguchi Emin – Farmacêutica Bioquímica; - LACEN
- Sandra Eliane Maia P. da Silva – Farmacêutica Bioquímica (trabalhou no PREBAF até out/05, atualmente trabalha em outra Instituição); - LACEN
- Newton Oliveira do Carmo – técnico de laboratório; - LACEN
- João Soares – médico veterinário. - VISA

CEARÁ

VIGILÂNCIA SANITÁRIA

- Norival Ferreira dos Santos
- Ângela Maria Leite Gomes
- Fernando Rodrigues de Souza

LACEN

- Ana Claudia Lopes Aguiar
- Edna Cristina de Oliveira Brito
- Mirtis Tavares de Oliveira
- Maria Tereza Pinto da Costa
- Francisa Alexandra C. Pinto
- Elaine Pereira Macedo
- Helena Silvia F. de Arruda
- Everanne Madja Gomes
- Alisson Lima de Souza
- Marcelo Pamplona Fiuza



DISTRITO FEDERAL

- Patrícia Almeida Bavaresco: Chefe do Núcleo de Alimentos e responsável junto a Coordenação Nacional pelo Programa no Lacen-DF
- Laila Chahele Miguel: analista responsável pelas análises laboratoriais
- Helena Michiko Yokoyama: analista responsável pelas análises laboratoriais
- Jane Rocha Figueiroa: apoio logístico
- Joana D'Arc Parente dos Reis: Chefe substituta do Núcleo de Alimentos, responsável pelo Programa de setembro a dezembro de 2005, período em que foram analisadas 20 amostras.

ESPÍRITO SANTO

- Núcleo de Vigilância Sanitária Estadual

Responsável Administrativo/Amostragem – Maria Júlia Dam

Responsável pela Coleta

- Marisa Helena Dan
- Maria Júlia Dam
- Laboratório Central de Análise – LACEN-ES
- Responsável pela Análise: Vera Lúcia Valle

GOIÁS

VISA

- Angela Maria M.M.Cardoso - Superintendente Vigilância Sanitária
- João Ferreira de Moraes - Gerente de Fiscalização
- Márcia Regina de Moura Dias - Coordenação de Alimentos - Responsável pelo Projeto na VISA (coletas)

LACEN

- Maria Bárbara Helou Rodrigues - Diretora do LACEN
- Marluca Catúlio - Chefe da Sessão de Bromatologia
- Maria Augusta P. Paiva - Responsável pelo projeto no LACEN

MATO GROSSO DO SUL

EQUIPE TÉCNICA

MICROBIOLOGISTAS

- Míriam Tokeshi Muller - LACEN
- Andréia Massulo - LACEN
- Kelly Cristina S. da Silveira Salles - LACEN
- Cleide Medeiro - LACEN

COORDENAÇÃO DO PROJETO

- Sônia Aparecida Viana Câmara - LACEN
- Gilmar Fonseca de Arraes - VISA

MINAS GERAIS

Gerência de Vigilância Sanitária de Alimentos de Minas Gerais - GVA

Gerentes:

Ligia Lindner Shereiner (antes de março/2007)

Milton Cabral de Vasconcelos Neto (março/2005 a maio/2007)



Claudia Parma Machado (a partir de maio/2007)
Coordenadora do PREBAF/ GVA:
Magda Regina Gonçalves de Paula Ferreira

LACEN/FUNED:

Maria Crisolita Cabral da Silva
Karine Queiroz da Silva
Eronilda de Castro Pena
Junara Viana de Oliveira

Agentes de Vigilância Sanitária que procederam coletas de amostras no comércio:

GRS/ALFENAS/VISA MUNICIPAL de Poço Fundo – Silnes Helena Diogo Marçal
GRS/ALFENAS/VISA MUNICIPAL de Serrania – Ivana Araújo
GRS/ BARBACENA/ VISA MUNICIPAL de Ouro Branco – Marise Lopes Paiva de Moraes
GRS/ BARBACENA/ VISA MUNICIPAL Conselheiro Lafaiete – Kassim G.Raslan
GRS/ BARBACENA/ VISA MUNICIPAL de Barbacena – Marco Túlio Santos Salim
GRS/ BARBACENA/ VISA MUNICIPAL de Piranga – Aline Faria Cruz
GRS/CORONEL FABRICIANO MUNICIPAL de Ipatinga – Barôncio Paulo de Oliveira Cabral
GRS/BELO HORIZONTE/ VISA MUNICIPAL de Ribeirão das Neves – Adaury Benício Costa
GRS/BELO HORIZONTE/VISA MUNICIPAL Nova Lima – contato: Antonio Furtado
GRS/BELO HORIZONTE/VISA MUNICIPAL de Belo Horizonte/Regional Centro Sul –Leandro Esteves de Vasconcellos
GRS/BELO HORIZONTE/VISA MUNICIPAL de Contagem – Rosemere Valadares Santana
GRS/DIVINÓPOLIS/VISA MUNICIPAL de Pará de Minas – Adilson José Batista
GRS/DIVINÓPOLIS/VISA MUNICIPAL de Arcos – Sebastião Alves Bitencourt
GRS/DIVINÓPOLIS/VISA MUNICIPAL de Divinópolis – contato: Celina Maria Pires dos Santos
GRS/DIVINÓPOLIS – Maria Cleide Freire
GRS/DIVINÓPOLIS – Elizabeth Champion
GRS/GOVERNADOR VALADARES/VISA MUNICIPAL de Caratinga – Bruno da Costa Pinto
GRS/ITABIRA/VISA MUNICIPAL de São Gonçalo do Rio Abaixo – Erlon Cristian Lopes
GRS/ITABIRA/VISA MUNICIPAL de Itabira – Adir da Conceição Jabom
GRS/ITUIUTABA/VISA MUNICIPAL de Ituiutaba – Aguinaldo Moura da Silva
GRS/MANHUMIRIM/VISA MUNICIPAL de Manhumirim – Sávia Francklin Mansur
GRS/MONTES CLAROS/VISA MUNICIPAL de Montes Claros – Ivanilde Alves Gusmão
GRS/PASSOS/VISA MUNICIPAL de São Sebastião do Paraíso – Maria Antonia de Freitas Pereira
GRS/PONTE NOVA/VISA MUNICIPAL de Viçosa – Luiz Roberto de Freitas da Silva
GRS/POUSO ALEGRE/VISA MUNICIPAL de Itajubá – Jonas Rodrigues
GRS/UBERABA/VISA MUNICIPAL de Uberaba – Adilson Caetano da Silva
GRS/UBERABA – Adilson Caetano da Silva
GRS/UBERLÂNDIA/ VISA MUNICIPAL de Uberlândia – Marco Aurélio Ribeiro de Sá
GRS/SÃO JOÃO DEL REI/VISA MUNICIPAL de São João Del Rei – Flavio Raimundo Soares
GRS/SETE LAGOAS/VISA MUNICIPAL de Curvelo – Geraldo Moreira da Costa Filho
GRS/SETE LAGOAS/VISA MUNICIPAL de Paraopeba – Maria Aparecida Aguiar S. Nogueira
GRS/SETE LAGOAS/VISA MUNICIPAL de Sete Lagoas – Jorge Antônio Mansur Miranda

PARANÁ

EQUIPE ENVOLVIDA:

- Ana Maria Senff - SESA- LACEN- PR
- Carmen Lúcia Gomes Souza - SESA- LACEN- PR
- Fernanda Nogari - PMC – VISA
- Pedro Paulo Pedroso - SESA- VISA- PR
- Sonia Regina Wotkoski - SESA- LACEN- PR



- Wanda Moscalewski Abrahão - SESA- LACEN- PR

RIO DE JANEIRO

- Andréa Maria Bastos Germano
Responsável pelo PREBAF e colheitas no Estado do Rio de Janeiro

- Eliane Maria Cardoso
Representante das análises do Laboratório Noel Nutels

RIO GRANDE DO NORTE

Subcoordenadoria de Vigilância Sanitária do RN - SUVISA:
Subcoordenador: Marcos Sérgio de Araújo Guerra

Equipe da SUVISA - Execução do PREBAF (Coleta de Amostra de frango):

1. Maria Célia Barbosa de Farias (Representante VISA/RN);
2. Maria Lúcia Martins Câmara;
3. Maria José Fernandes dos Santos;
4. Waldemar Santiago Costa;
5. Carlos Frederico Paiva;
6. Renato George Dantas;

Equipe do LACEN - Execução do PREBAF (Análise das Amostras de frango):

1. Christiane Lira de Vasconcelos Pinheiro (Representante LACEN/RN)
2. Aglacy Rocha Maia
3. Eugênio Pacelle Dantas da Costa;
4. Maria Dulcimar de Meneses;
5. Maria do Socorro Picado;
6. Vera Lúcia Bezerra de Almeida

RIO GRANDE DO SUL

VIGILÂNCIA SANITÁRIA ESTADUAL /CEVS
INSTITUTO DE PESQUISAS BIOLÓGICAS
LABORATÓRIO CENTRAL DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL – IPB-LACEN.
SEÇÃO DE MICROBIOLOGIA DE ÁGUAS E ALIMENTOS / DAP:

- Suzete Lobo Saar de Almeida
Responsável pelo setor de Alimentos

TÉCNICAS

- Carolina Alfama;
- Jane Mari Both;
- Laura V. Jacociunas;
- Mara L. T. Soeiro;
- Rosane C. Ramos;
- Simone Haas;
- Solange M. Longaray;
- Tatiana Tramontina

COLETA

- Maria da Graça A. da Cunha - 1ª CRS/DVS/SES.



SANTA CATARINA

VIGILÂNCIA SANITÁRIA ESTADUAL

João Carlos da Costa

LABORATÓRIO CENTRAL DO ESTADO DE SANTA CATARINA (LACEN)

BIOQUÍMICAS

- Cristina Matos Maia de Oliveira;
- Maria Aparecida Mendes de Souza;
- Rita de Cássia Gonçalves D' Ávila da Silva;
- Valkíria Nahas Ávila

TÉCNICAS

- Adriana Couto La Porta;
- Karoline da Silva Pereira.

Setores de Recepção e Cadastro de Amostras, Meios de Cultura e Reativos, Lavagem e Esterilização de Materiais.

SÃO PAULO - CAPITAL

DIVISÃO DE BROMATOLOGIA E QUÍMICA

DIRETORA DO SERVIÇO DE ALIMENTOS

Dra. Deise Ap. Pinatti Marsiglia

EQUIPE TÉCNICA DA SEÇÃO DE MICROBIOLOGIA ALIMENTAR - IAL SÃO PAULO – CAPITAL

COORDENADORA

Dra. Miyoko Jakabi

EQUIPE DE ANÁLISE

- Ana Maria Ramalho de Paula
- Christiane Asturiano Ristori Costa
- Giselle Ibetete S. Lopez Lopes
- Ruth Estela Gravato Rowlands
- Ana Luiza Gomes Nicoliello
- Andrey Guimarães Sacramento
- Marisa de Jesus de Castro Lima
- Luciana Soares Tegani
- Adriana Hitomi Watanabe

EQUIPE TÉCNICA DA SEÇÃO DE ÓLEOS, GORDURAS E CONDIMENTOS DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ
RESPONSÁVEL PELA ANÁLISE DE ROTULAGEM

Jussara Carvalho de Moura Della Torre;

- Regina Sorrentino Minazzi Rodrigues.

Seção de Meios de Cultura do Instituto Adolfo Lutz

Secretaria do Serviço de Alimentos pelo escaneamento dos rótulos.



SÃO PAULO – RIBEIRÃO PRETO

VISA/DIR XVIII – RIBEIRÃO PRETO / SP –

- Omara Gemha Tara – Engenheira de Alimentos
IAL/RIBEIRÃO PRETO
- Alzira Maria Morato Bergamini – Pesquisador Científico II
IAL/RIBEIRÃO PRETO
- Eliana Guimarães Abeid Ribeiro – Pesquisador Científico II
IAL/RIBEIRÃO PRETO
- Maria Aparecida de Oliveira - Pesquisador Científico II
IAL/RIBEIRÃO PRETO
- Sonia de Paula Toledo Prado - Pesquisador Científico II
IAL/RIBEIRÃO PRETO



