

PESQUISA DE *Salmonella* spp. EM VEGETAIS MINIMAMENTE PROCESSADOS E PERFIL DE RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS E SANITIZANTES

DETECTION OF *Salmonella* spp. IN MINIMALLY PROCESSED VEGETABLES AND ANTIBIOTICS AND DISINFECTANT SUSCEPTIBILITY PROFILE

Maria Fernanda Silva Rodrigues¹ , Helen Leimann Winter² , Marilu Lanzarin³ , Daniel Oster Ritter⁴ 

Recebido em 03 de Setembro de 2024 | Aprovado em 08 de Janeiro de 2025

RESUMO

Os vegetais minimamente processados são uma alternativa de consumo cada vez mais apreciada pelos consumidores que procuram conveniência e praticidade associada a saudabilidade de alimentos. Para garantir a segurança dos alimentos, pesquisas de microrganismos patogênicos em alimentos prontos para consumo são essenciais. Levando em consideração o elevado consumo de alimentos prontos para o consumo, o presente trabalho teve como objetivo a pesquisa de *Salmonella* spp. em vegetais minimamente processados comercializados em Cuiabá, Mato Grosso, e a análise de resistência a antibióticos e sanitizantes dos isolados encontrados. Foram selecionadas amostras de alface, rúcula, cenoura e couve minimamente processadas comercializadas em supermercados da cidade. A presença de *Salmonella* spp. foi verificada em cinco amostras de rúcula, sendo verificado sensibilidade apenas aos antibióticos piperacilina com tazobactam e meropenem, assim como a todos os sanitizantes testados. Os resultados obtidos reforçam a importância da realização de higienização de alimentos consumidos *in natura*, uma vez que a presença de estirpes resistentes a antibióticos representa um risco a saúde pública.

Palavras-chave: Segurança dos Alimentos; Saúde Pública; Controle de Qualidade.

ABSTRACT

Minimally processed vegetables are an increasingly popular alternative for consumers looking for convenience and practicality combined with healthy diet. To maintain food safety, research on pathogenic microorganisms in ready-to-eat foods is essential. Considering the high consumption of ready-to-eat foods, the aim of this study was to investigate *Salmonella* spp. in minimally processed vegetables sold in Cuiabá, Mato Grosso, and to analyze the resistance of the isolates found to antibiotics and disinfectants. Samples of minimally processed lettuce, arugula, carrots and cabbage sold in supermarkets in the city were selected. The presence of *Salmonella* spp. was detected in five samples of rocket, and susceptibility was found only to the antibiotics piperacillin with tazobactam and meropenem, as well as to all sanitizers tested. The results obtained reinforce the importance of sanitizing foods consumed in the wild, since the presence of antibiotic-resistant strains represents a risk to public health.

Keywords: Food Safety; Public Health; Quality Control.

¹ Graduanda em Engenharia de Alimentos pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia (IFMT Campus Bela Vista), Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. Endereço para correspondência: Av. Ver. Juliano da Costa Marques, s/nº - Bela Vista, Cuiabá - MT, 78050-560. E-mail: mfernandaquella@gmail.com

² Doutoranda em Ciência Animal pela Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. Endereço para correspondência: Av. Fernando Correa da Costa, nº 2367, Bairro Boa Esperança, Cuiabá-MT, Brasil. Cep: 78060-900. E-mail: leimann.hellen@gmail.com

³ Doutora em Medicina Veterinária Pela Universidade Federal Fluminense (UFF). Professora no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia (IFMT Campus Bela Vista), Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. Endereço para correspondência: Av. Vereador Juliano da Costa Marques, Bela Vista, Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. Cep: 780505-560. E-mail: marilu.lanzarin@ifmt.edu.br

⁴ Doutor em Medicina Veterinária Pela Universidade Federal Fluminense (UFF). Professor no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia (IFMT Campus Bela Vista), Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. Endereço para correspondência: Av. Vereador Juliano da Costa Marques, Bela Vista, Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. Cep: 780505-560. E-mail: daniel.ritter@ifmt.edu.br

1. Introdução

Os consumidores apresentam nos últimos anos uma crescente demanda por alimentos prontos para o consumo, associado a conveniência e praticidade buscando também o consumo de alimentos que sejam frescos e remetam a saudabilidade. Nesse sentido as frutas e vegetais minimamente processados prontos para o consumo têm se tornado cada vez mais populares, já que não requerem preparação por parte do consumidor quanto a seleção, lavagem e corte (MARTINS et. al., 2021; ITAL, 2020; FREIRE JUNIOR, 2021).

Entre os vegetais comercializados minimamente processados estão alface, agrião, rúcula, couve e outras folhosas, além de cenoura, repolho, couve-flor e saladas mistas. A preparação envolve operações como classificações, pré-lavagem, descascamento, corte, sanitização, centrifugação, embalagem, armazenamento e distribuição. Para a comercialização, é crucial monitorar a temperatura, prevenir a perda de umidade e utilizar embalagens adequadas para manutenção do frescor e segurança dos alimentos (FREIRE JUNIOR, 2021; EMBRAPA, 2011).

Os vegetais minimamente processados são fontes importantes de vitaminas, minerais e fibras, no entanto por serem submetidas a leves processamentos tornam-se mais perecíveis devido aos danos físicos e químicos que podem ocorrer durante as etapas de elaboração, afetando a cor, odor, textura, qualidade nutricional e reduzindo o prazo comercial (SANTOS et. al., 2019; COSTA et. al., 2009). Considerando que a maioria dos vegetais é consumida sem nenhum tratamento térmico efetivo, uma das principais preocupações de saúde pública é em relação a contaminação biológica, especialmente a presença de bactérias patogênicas.

O gênero *Salmonella* spp. é amplamente difundido na natureza, estando presente também, no trato gastrointestinal do homem e de animais e assim podendo contaminar os mais diversos tipos de alimentos, dentre eles os vegetais. É um patógeno de importância para os alimentos, principalmente os frescos que não passam por tratamento térmico, como é o caso dos vegetais minimamente processados (GRAZIANI et al., 2017; SILVA et al., 2017).

O uso de antimicrobianos e sua relação com a resistência em bactérias é bem documentada, de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) cerca de 700 mil pessoas morrem ao ano em todo o mundo devido a resistência antimicrobiana e a estimativa é que até 2050 cerca de 10 milhões mortes podem ser correlacionadas com a resistência antimicrobiana (OMS, 2019).

Os antimicrobianos são medicamentos usuais contra várias infecções, como aquelas que

são causadas por bactérias, por exemplo. A resistência a antimicrobianos aparece quando se tem a sobrevivência do agente causador da infecção mediante o uso de um medicamento que normalmente o eliminaria (O'NEIL, 2016).

Em consequência da resistência antimicrobiana se tem a redução da eficácia de terapias antimicrobianas, o que resulta em maior incidência da virulência e gravidade da doença (BARZA, 2002). Diógenes e colaboradores (2020) verificaram que a resistência aos antibióticos entre isolados de alimentos aumentou nos últimos anos, sendo essencial monitorar o perfil de sensibilidade antimicrobiana e a emergência de cepas multirresistentes.

Outra preocupação refere-se à suscetibilidade dos microrganismos aos principais sanitizantes químicos utilizados na indústria de alimentos. Esses sanitizantes são empregados como uma etapa complementar a higienização, com o objetivo de eliminar microrganismo. Dada a variedade de microrganismo que podem representar riscos à saúde a eficácia dos sanitizantes frente a *Salmonella* torna-se questionável (KUAYE, 2017; CARVALHO, 2018).

A resistência microbiana a sanitizantes ocorre quando há a presença temporária ou mesmo permanente do microrganismo em condições que deveria inibi-lo. Bactérias são classificadas como resistentes quando não são suscetíveis às concentrações usuais de agentes antimicrobianos. O mecanismo de resistência se relaciona com as características dos microrganismos, assim os microrganismos respondem diferentemente em função do agente sanitizante utilizado (KUAYE, 2017).

Levando em consideração a relevância de pesquisas que verificam a presença de patógenos alimentares em alimentos prontos para o consumo, o presente trabalho teve como objetivo verificar a ocorrência de *Salmonella* spp. em amostras de alface, rúculas baby, cenoura e repolho minimamente processados prontos para o consumo, disponíveis no comércio de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil, verificando a resistência dos isolados aos antibióticos e sanitizantes.

2. Metodologia

Foi realizado um levantamento dos estabelecimentos que comercializavam vegetais minimamente processados e prontos para o consumo na cidade de Cuiabá-MT, para posterior obtenção das amostras. Foram adquiridas duas amostras de repolho, cenoura, alface americana e rúcula baby em três supermercados, armazenadas em caixa térmica com gelo reciclável e imediatamente encaminhadas para o Laboratório de Análise Microbiológica de Alimentos

(LAMA) do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso (IFMT) Campus Cuiabá-Bela Vista para realização das análises.

A ocorrência de *Salmonella* spp. nas amostras foi realizada de acordo com a metodologia proposta pela Associação Brasileira de Normas Técnicas ISO 6579 (ABNT, 2014), sendo retirados 25 g da amostra e adicionados em 225 ml de água peptonada tamponada, seguido de homogeneização, e incubadas a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 18 horas para obtenção do pré-enriquecimento.

Para a etapa de enriquecimento seletivo foram transferidos 0,1 mL do pré-enriquecimento para o caldo Rappaport Vassilidis e 1 mL do pré-enriquecimento caldo Mueller-Kauffmann Tetracionato, incubados a 37°C e $41,5^{\circ}\text{C}$ respectivamente, por 24 horas. Por fim foi realizado o plaqueamento diferencial através de estrias de esgotamento de cada caldo de enriquecimento para placas de petri contendo ágar Xilose Lisina Desoxilato (XLD) e ágar Verde Brilhante Vermelho de Fenol Lactose Sacarose (BPLS), incubadas a 37°C por 24 horas.

As colônias características de *Salmonella* spp. em ágar XLD apresentam cor rosa escuro com centro preto e zona vermelha levemente transparente, já no ágar BPLS são incolores a rosadas, lisas rodeadas por uma área vermelhada no centro. As colônias características para *Salmonella* spp. em cada meio de cultura foram selecionadas e purificadas em ágar nutriente para posterior confirmação bioquímica de reação em ágar Tríplice Açúcar e Ferro (TSI), Ágar Lisina Ferro (LIA), ágar ureia, reação de indol e reação de Voges-Proskauer.

Após o isolamento das colônias que apresentaram reações bioquímicas típicas para *Salmonella* spp. foi verificada a susceptibilidade a antimicrobianos conforme a metodologia de difusão em disco em ágar Mueller-Hinton proposta por Bauer e colaboradores (1966). Inicialmente a partir de culturas recentes (obtidas após 18 horas de incubação) foram elaboradas soluções com turbidez equivalente a 0,5 na escala de MacFarland, para então ser realizado o espalhamento da cultura isolada com auxílio de swab em placas com ágar já solidificado e inserido com auxílio de pinça estéril os discos de antibióticos e sanitizantes, seguidos de incubação a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 horas.

Os antibióticos foram definidos seguindo as diretrizes do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 2022 para o grupo *Enterobacteriaceae*, sendo selecionados: amoxicilina com ácido clavulânico, ampicilina com sulbactam, piperacilina com tazobactam, meropenem, doxiciclina, tetraciclina, trimetoprim e cloranfenicol. Os sanitizantes escolhidos foram definidos levando em consideração seu uso comercial, sendo ácido peracético a 15%, hipoclorito de sódio a 1% e quaternário de amônia.

Após a leitura das placas e medidas dos halos de inibição, os dados de ocorrência de *Salmonella* spp. e antibiograma foram tabelados e analisados através de estatística descritiva.

3. Resultados e Discussão

Foi verificada a presença de *Salmonella* spp., em cinco das 24 amostras analisadas, conforme descrito pela Tabela 01.

Tabela 01 - Ocorrência de *Salmonella* spp. em diferentes amostras de vegetais minimamente processados em relação aos estabelecimentos.

	A	B	C	Total
Alface	0% (0/2)	0% (0/2)	0% (0/2)	0% (0/6)
Rúcula baby	100% (2/2)	100% (2/2)	50% (1/2)	83% (5/6)
Cenoura	0% (0/2)	0% (0/2)	0% (0/2)	0% (0/6)
Repolho	0% (0/2)	0% (0/2)	0% (0/2)	0% (0/6)
Total				20% (5/24)

Fonte: Autoria própria.

A presença de *Salmonella* spp. em alimentos é geralmente correlacionada com derivados de aves e ovos que não foram devidamente cozidos, entretanto tem sido notificados surtos que correlacionam a presença dessa bactéria a frutas, hortaliças e vegetais crus (CDC, 2018; MONTEIRO, 2016; POSSEBON, 2021).

A presença de *Salmonella* foi detectada nas três amostras de rúcula baby provenientes de diferentes estabelecimentos analisados, esse resultado sugere que falhas na cadeia de produção, manuseio e preparo do alimento podem contribuir para a contaminação microbiológica. É importante ressaltar que a *Salmonella*, causadora da salmonelose, pode gerar sintomas como febre, diarreia e dores abdominais, reforçando a necessidade de cuidados rigorosos na produção e no preparo de alimentos.

A salmonelose é uma doença transmitida por alimentos (DTA's) conhecida por causar infecções humanas, associadas mortalidade em países de baixa renda. O tratamento geralmente envolve o uso de antibióticos, que podem suprir a microbiota normal, comprometendo o efeito protetor e favorecendo o crescimento de cepas de *Salmonella* resistentes a antibióticos (WHO, 2015; NONATO et al., 2023).

A resistência dos microrganismos às bases antimicrobianas pode variar, ocorrendo por diferentes mecanismos, como ação enzimática, ativação de mecanismo de bomba de efluxo, alteração de permeabilidade e modificação do sítio ativo de ação antibiótico (OLIVEIRA, 2014).

As cepas de *Salmonella* spp., isoladas foram analisadas quanto a sua resistência a antibióticos, conforme a Tabela 2.

Tabela 2 - Frequência da suscetibilidade de *Salmonella* spp. aos antimicrobianos estudados.

Antibióticos	Sensíveis		Intermediário		Resistentes	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Amoxicilina com Ácido Clavulânico	-	-	-	-	5	100
Ampicilina com Sulbactam	-	-	-	-	5	100
Piperacilina com Tazobactam	5	100	-	-	-	-
Meropenem	5	100	-	-	-	-
Doxicilina	3	60	-	-	2	40
Tetraciclina	4	80	-	-	1	20
Trimetoprim	-	-	-	-	5	100
Cloranfenicol	4	80	-	-	1	20

Fonte: Autoria própria

- Dado numérico igual a zero.

Os antibióticos podem ser classificados em β -lactâmicos (penicilinas, cefalosporinas, carbapeninas, oxpeninas e monobactamas), tetraciclina, aminoglicosídeos, macrolídeos, peptídicos cíclicos (glicopeptídeos, lipopeptídeos), estreptograminas, entre outros (GUIMARÃES, 2010).

Dentre os antibióticos analisados foi verificada maior resistência por amoxicilina com ácido clavulânico, ampicilina com sulbactam e trimetoprim, indicado que seu uso em casos de infecções alimentares pode não ser eficaz. Essa resistência pode ser justificada pelo uso inadequado de fármaco, desenvolvendo a necessidade de utilizar novos antibióticos, Diógenes e colaboradores (2020) verificaram que a resistência aos antibióticos entre os isolados de alimentos aumentou nos últimos anos, sendo essencial monitorar o perfil de sensibilidade antimicrobiana e a emergência de cepas multirresistentes (BARZA, 2002).

As cepas analisadas apresentam sensibilidade apenas com os antibióticos piperacilina com

tazobactam e meropenem, ambos pertencentes à classe dos carbapenêmicos, beta-lactâmicos, que apresentam um elevado aspecto de ação eficaz contra as bactérias Gram-negativas e positivas (GUIMARÃES et al., 2010).

Em relação a resistência a ação dos sanitizantes todas as cepas analisadas apresentaram sensibilidade frente a ação do ácido peracético, hipoclorito de sódio e quaternário de amônia, indicando que a aplicação correta desses compostos pode agir impedindo que a *Salmonella* spp. continue seu desenvolvimento.

4. Considerações

A presença de *Salmonella* spp. foi detectada em apenas um dos tipos de vegetais analisados, indicando possíveis falhas na produção e processamento das folhosas. A resistência bacteriana foi maior aos antimicrobianos amoxicilinas com ácido clavulânico, ampicilina com sulbactam e trimetoprim, devido ao uso exagerado desses medicamentos. Entretanto, piperacilina com tazobactam e meropenem mostraram eficácia contra a bactéria. Todos os sanitizantes analisados foram eficazes.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Pró-reitora de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso (PROPES/IFMT) através do edital nº 20/2022.

Referências

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR ISO 6579: **Microbiologia de alimentos para consumo e animal – Método horizontal para a detecção de *Salmonella* spp.** 1 ed. 2014.

BAUER, A. W., et al. Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method. **American Journal of Clinical Pathology**, p. 45:493–496, 1966.

BARZA, M. Potential mechanisms of increased disease in humans from antimicrobial resistance in food animals. **Clinical Infectious Diseases**, v, 34, n.3, p. 123-125, 2002.

COSTA, W. A. et al. Biocontrole de *Listeria monocytogenes* por *Pediococcus acidilactici* em

couve minimamente processada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 29, n. 4, p. 785-792, 2009.

CARVALHO, S. M. **Inibição de Biofilme de Salmonella minnesota por agentes sanitizantes**. 2018. 27f. Universidade Federal de Uberlândia (Trabalho de Conclusão de Curso) – Medicina Veterinária. 2018.

CDC. **Outbreak of Multidrug-Resistant Salmonella Infections Linked to Raw Chicken Products**. 2018.

DIÓGENES, E. M. et al. Resistência Antimicrobiana entre Isolados de Listeria Monocytogenes em Alimentos – Revisão de Literatura. **Encontros Universitários da UFC**. Fortaleza, v. 5, n. 3, 2020.

FORSYTHE, S.J. **Microbiologia da Segurança dos Alimentos**. Porto Alegre/RS: Artmed, 2013. p. 620.

FREIRE JUNIOR, M. **Processamento mínimo**. Agência Embrapa de Informação Tecnológica. Disponível em: Processamento mínimo - Portal Embrapa. Acesso em 16/08/2024.

GRAZIANI, C. et al. **Salmonella**. *Foodborne Diseases*, p. 133–169, 2017.

GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. S.; PUPO, M. T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Rev. Quim. Nova**. v. 33, n. 33, 2010.

ITAL- INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. **Brasil food Trends 2020**. São Paulo: ITAL/FIESP, 2010. P. 173.

KUAYE, A. Y. **Limpeza e sanitização na indústria de alimentos**. Rio de Janeiro: Atheneu, v. 4, n.1, p. 323, 2017.

MARTINS, I. A. et al. Análise microbiológica de hortaliças e vegetais minimamente processados comercializado em grandes redes de supermercados de Belo Horizonte-MG. **Brazilian Journal of Health Review**, Curitiba 2021. v. 4, n. 1, p. 1172-1185.

MONTEIRO, S. E. A. **Avaliação da qualidade microbiológica de saladas prontas para consumo comercializadas na região de Lisboa**. 2016. Dissertação de Mestrado. Universidade NOVA de Lisboa (Portugal).

NONATO, L. M. P. et al. CONTAMINAÇÃO ALIMENTAR POR SALMONELLA SPP: UMA REVISÃO DE LITERATURA. **Revista CPAQV - Centro de Pesquisas Avançadas em Qualidade de Vida**, [S. l.], v. 15, n. 3, 2023. DOI: 10.36692/V15N3-44R. Disponível em: <https://revista.cpaqv.org/index.php/CPAQV/article/view/1419>. Acesso em: 26 ago. 2024.

OLIVEIRA, A. L. D.; SOARES, M. M.; SANTOS, T. C. D.; SANTOS, A. D. Mecanismos de Resistência Bacteriana a Antibióticos na Infecção Urinária. **Revista Uningá**. V.20, n. 3, p. 65-71, 2014.

OMS. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Sem tempo para esperar: Protegendo o futuro de infecções resistentes a medicamentos.** Genebra, Organização Mundial da Saúde, p. 5, 2019

O'NEIL, J. Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations. In: Ro A, ed. **Resistance.** London, United Kingdom, v. 1, p. 84, 2016.

OLIVEIRA SILVA, E. et al. **Processamento mínimo de produtos hortifrutícolas.** Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2011. 22 p. (Documentos, 139).

POSSEBON, G. G. B. **Avaliação da ocorrência e co-ocorrência de E. coli, Salmonella spp., e norovírus em vegetais folhosos produzidos em sistemas convencionais e orgânicos.** 2021. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, University of São Paulo, Pirassununga, 2021

SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água.** 5.Ed. São Paulo: Livraria Varela, 2017.

SANTOS, R. B. dos, et al. Qualidade Microbiológica de Alimentos In Natura Minimamente Processados. **Global Science Technology**, Rio Verde 2019, v.12, n.01, p.43-52.

WANJA, D. et al. Antibiotic and Disinfectant Susceptibility Patterns of Bacteria Isolated from Farmed Fish in Kirinyaga County, Kenya. **International Journal of Microbiology**, 2020.

WHO, **World Health Organization. Estimates of the Global Burden of Foodborne Diseases:** Foodborne Disease Burden. Epidemiology Reference Group 2007-2015. World Health Organization WHO, Geneva, p. 268, 2015.