

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias

Câmpus de Jaboticabal

GABRIELLY THEOPHILO

**RELATÓRIO FINAL DA RESIDÊNCIA EM ÁREA PROFISSIONAL DA SAÚDE:
ANTIMICROBIAL RESISTANCE OF ENTEROBACTERIA ISOLATES FROM
FOOD-HANDLING SURFACES AND UTENSILS**

Jaboticabal

2026

GABRIELLY THEOPHILO

**RELATÓRIO FINAL DA RESIDÊNCIA EM ÁREA PROFISSIONAL DA SAÚDE:
ANTIMICROBIAL RESISTANCE OF ENTEROBACTERIA ISOLATES FROM
FOOD-HANDLING SURFACES AND UTENSILS**

Trabalho de Conclusão da Residência
apresentado à Faculdade de Ciências Agrárias e
Veterinárias - Unesp, Câmpus de Jaboticabal,
como parte das exigências do Programa de
Residência em Área Profissional da Saúde -
Medicina Veterinária e Saúde - Subárea:
Vigilância Sanitária de Alimentos

Orientador: Prof. Dr. Mateus de Souza Ribeiro Mioni

Jaboticabal

2026

FICHA CATALOGRÁFICA

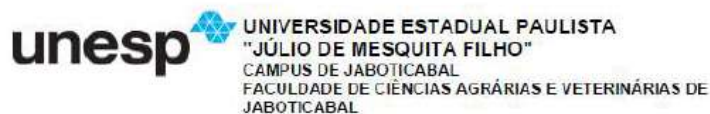
T394a Theophilo, Gabrielly
Antimicrobial resistance of enterobacteria isolates from food-handling surfaces and utensils / Gabrielly Theophilo. -- Jaboticabal, 2026
xiii, 23 f.

Trabalho de Conclusão (Residência em Área Profissional da Saúde – MEC/SUS), Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2026
Orientador: Mateus de Souza Ribeiro Mioni
Banca examinadora: Luisa Zanolli Moreno, Mariana Rodrigues Miotto
Bibliografia

1. Alimentos microbiologia. 2. Enterobacteriaceae. 3. Antibióticos. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:614.3

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: RELATÓRIO FINAL DE RESIDÊNCIA EM ÁREA PROFISSIONAL DA SAÚDE: ANTIMICROBIAL RESISTANCE OF ENTEROBACTERIA ISOLATES FROM FOOD-HANDLING SURFACES AND UTENSILS

AUTOR: GABRIELLY THEOPHILO

ORIENTADOR: Prof. Dr. MATEUS DE SOUZA RIBEIRO MIONI

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de RESIDÊNCIA EM ÁREA PROFISSIONAL DA SAÚDE – MEDICINA VETERINÁRIA E SAÚDE, pela Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente
gov.br MATEUS DE SOUZA RIBEIRO MIONI
Data: 10/03/2026 14:38:56-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr. MATEUS DE SOUZA RIBEIRO MIONI
Departamento de Patologia, Reprodução e Saúde Única

Documento assinado digitalmente
gov.br LUISA ZANOLLI MORENO
Data: 10/03/2026 16:06:07-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Profa. Dra. LUISA ZANOLLI MORENO
Departamento de Patologia, Reprodução e Saúde Única

Dra. MARIANA RODRIGUES MIOTTO
Vigilância Sanitária de Jaboticabal/SP

Documento assinado digitalmente
gov.br MARIANA RODRIGUES MIOTTO
Data: 10/03/2026 18:46:04-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Data da realização: 25 de fevereiro de 2026.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais e ao meu irmão, agradeço o apoio incondicional desde o início da minha trajetória acadêmica.

Aos amigos do Laboratório de Segurança dos Alimentos, Isadora, Gabriela e Matheus, pela convivência e pelo apoio, que tornaram a rotina mais leve e agradável.

Ao Prof. Dr. Mateus Mioni, pela paciência, pela atenção e pelos ensinamentos transmitidos ao longo da residência.

Ao Programa de Residência em Área Profissional de Saúde – Medicina Veterinária e Saúde, pelo crescimento profissional obtido ao longo dos dois anos de residência.

Ao Grupo Zanchetta, pela oportunidade de realizar o estágio, e aos Controladores da Qualidade da empresa, pela disponibilidade em compartilhar seus conhecimentos comigo, que foram essenciais para a consolidação de conteúdos teóricos e para a aquisição de novos aprendizados práticos.

DADOS CURRICULARES

Gabrielly Theophilo, nascida em 02 de junho de 1998, na cidade de Guarulhos, São Paulo, Brasil. Ingressou na Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba (FMVA) em 2018, no curso de graduação em Medicina Veterinária pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Câmpus Araçatuba.

Durante a graduação, foi membro do Grupo de Estudos de Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal da FMVA. Realizou treinamento técnico na disciplina de Tecnologia de Produtos de Origem Animal e foi bolsista do PIBIC/CNPq de iniciação científica, intitulada “Resposta de tilápias alimentadas com resíduos de fruta ao estresse”, ambos sob a orientação da Profa. Dra. Elisa Helena Giglio Ponsano. Contribuiu para a publicação do artigo científico “Dietary Fruit By-Products Improve the Physiological Status of Nile Tilapias (*Oreochromis niloticus*) and the Quality of Their Meat” no periódico Antioxidants, v. 12, n. 8, 2023.

Em setembro de 2023, concluiu a graduação e, em março de 2024, iniciou no Programa de Residência em Área Profissional da Saúde – Medicina Veterinária e Saúde, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Câmpus Jaboticabal, sob orientação do Prof. Dr. Mateus de Souza Ribeiro Mioni, na subárea de Vigilância Sanitária de Alimentos.

RESUMO

O Programa de Residência em Área Profissional da Saúde – Medicina Veterinária e Saúde (PRAPS-MVS) é uma pós-graduação *lato sensu* que possibilita ao médico veterinário atuar em atividades práticas nas subáreas de interesse profissional. A residência foi realizada na Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Câmpus de Jaboticabal/SP, na subárea de Vigilância Sanitária de Alimentos, durante o período de março de 2024 a fevereiro de 2026. Neste período, foram desenvolvidas atividades teóricas relacionadas à Saúde Pública, teórico-práticas e práticas na área escolhida, bem como a participação em questões de Saúde Pública do município. Ao término da residência, é necessário a elaboração de um trabalho de conclusão, o qual contempla, no Capítulo I as atividades realizadas pela autora no PRAPS-MVS e, no Capítulo II, o artigo científico intitulado *Antimicrobial resistance of enterobacteria isolates from food-handling surfaces and utensils*, desenvolvido no Laboratório de Segurança dos Alimentos da FCAV, com o objetivo de avaliar o perfil fenotípico de resistência da família Enterobacteriaceae presentes em superfícies de manipulação de alimentos e esponjas de cozinhas.

Palavras-chave: Residência; Medicina Veterinária; Saúde Pública; Segurança dos Alimentos.

ABSTRACT

The Residency Program in Professional Health Area – Veterinary Medicine and Health (PRAPS-MVS) is a *lato sensu* postgraduate program that enables veterinarians to engage in practical activities within their areas of professional interest. The residency was carried out at the São Paulo State University (UNESP), School of Agricultural and Veterinary Sciences (FCAV), Jaboticabal Campus, São Paulo, Brazil, in the subarea of Food Sanitary Surveillance, from March 2024 to February 2026. During this period, theoretical activities related to Public Health, as well as theoretical-practical and practical activities in the selected area, were developed, in addition to participation in matters related to municipal Public Health. At the end of the residency, a final project is required. In this case, Chapter I presents the activities performed by the author during the PRAPS-MVS, and Chapter II comprises the scientific article entitled *Antimicrobial resistance of enterobacteria isolates from food-handling surfaces and utensils*, developed at the Segurança dos Alimentos laboratory of FCAV, to evaluate the phenotypic resistance profile of the Enterobacteriaceae family present in food, drinking water, food handling surfaces, and kitchen sponges.

Keywords: Residency; Veterinary Medicine; Public health; Food safety.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Análises microbiológicas de alimentos e água realizadas no LaSA por tipo de amostra, quantidade analisada e microrganismos pesquisados	18
Tabela 2. Análises físico-químicas de alimentos e água realizadas no LaSA.....	19
Table 3. Origin of isolates, number of samples analyzed and number of Enterobacteriaceae isolates obtained	29
Table 4. Distribution of Enterobacteriaceae isolates identified by MALDI-TOF MS.....	29
Table 5. Frequency of antimicrobial resistance in Enterobacteriaceae isolates	30
Table 6. Antimicrobial resistance profile according to the number of classes and surfaces evaluated.....	31

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AOAC	Association of Official Analytical Collaboration
FCAV	Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias
GM/MS	Gabinete do Ministro/Ministério da Saúde
IN	Instrução Normativa
LaSA	Laboratório de Segurança dos Alimentos
nm	Nanômetro
PRAPS-MVS	Programa de Residência em Área Profissional da Saúde - Medicina Veterinária e Saúde
SP	São Paulo
UNESP	Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
°C	Graus Celsius
µg	Micrograma

SUMÁRIO

CAPÍTULO I – RELATÓRIO FINAL DA RESIDÊNCIA	12
RESUMO	13
1. INTRODUÇÃO	14
2. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS	14
2.1 Estratégias educacionais teóricas	14
2.2 Estratégias educacionais teórico-práticas	16
2.3 Estratégias práticas junto à Saúde Pública	16
2.4 Atividades na subárea específica	17
2.5 Estágio opcional de residência	20
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS	22
CAPÍTULO II – ANTIMICROBIAL RESISTANCE OF ENTEROBACTERIA ISOLATES FROM FOOD-HANDLING SURFACES AND UTENSILS	23
1. INTRODUCTION	25
2. MATERIALS AND METHODS	26
2.1 Sampling	26
2.2 Isolation of Enterobacteriaceae	27
2.3 Identification of isolates by Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of- Flight (MALDI-TOF MS)	27
2.4 Antimicrobial susceptibility testing	27
2.5 Statistical analysis	28
3. RESULTS	28
3.1 Frequency of resistance	29
3.2 Antimicrobial resistance profile.....	30
4. DISCUSSION	31
5. CONCLUSIONS	35
6. REFERENCES	35

CAPÍTULO I – RELATÓRIO FINAL DA RESIDÊNCIA

RESUMO

A Residência em Medicina Veterinária é uma modalidade de ensino de pós-graduação *lato sensu*, caracterizada por treinamento em serviço e desenvolvida por um período de dois anos. Tem como objetivos capacitar os veterinários e aperfeiçoar o exercício da profissão nas subáreas específicas de atuação. No Programa de Residência em Área Profissional da Saúde – Medicina Veterinária e Saúde (PRAPS-MVS), as atividades foram desenvolvidas entre março de 2024 e fevereiro de 2026, com a participação em aulas teóricas da residência com enfoque nos conceitos de Saúde Pública e Saúde Única; participação em ações de promoção de saúde no município de Jaboticabal, São Paulo; além da atuação prática na subárea de Vigilância Sanitária de Alimentos e da realização do estágio optativo em um abatedouro frigorífico de aves. Ao término da residência, O PRAPS-MVS proporcionou à residente uma compreensão ampliada do conceito de Saúde Única e da importância de atuação integrada das diferentes subáreas do programa na promoção da saúde humana, animal e ambiental, bem como contribuiu para o desenvolvimento técnico e acadêmico fundamentais para a formação profissional.

Palavras-chave: Residência; Medicina Veterinária; Saúde Pública; Segurança dos Alimentos

1. INTRODUÇÃO

O Programa de Residência em Área Profissional da Saúde – Medicina Veterinária e Saúde (PRAPS-MVS) é uma modalidade de ensino de pós-graduação *lato sensu*, na forma de curso de especialização, e caracterizado por treinamento em serviço com atividades distribuídas entre carga horária teórica, teórico-prática e prática.

Durante os dois anos de residência, o médico veterinário atua diretamente na subárea de interesse e nas áreas relacionadas ao Sistema Único de Saúde (SUS), junto à Vigilância Sanitária, Vigilância Epidemiológica, Controle de Vetores e Zoonoses, Atenção Básica, campanhas de vacinação, educação em saúde e conferências realizadas no município de Jaboticabal/São Paulo.

As atividades teóricas desenvolvidas na residência são no formato de aulas expositivas – presenciais ou remotas –, além da entrega mensal de relatórios e da realização de atividades complementares, como a participação em eventos científicos.

Já as atividades práticas são desenvolvidas nas subáreas específicas do Programa, sendo a atuação na subárea de Vigilância Sanitária de Alimentos relacionada a atender às demandas para análises microbiológicas, físico-químicas e moleculares de alimentos e água enviados ao Laboratório de Segurança dos Alimentos (LaSA), além de acompanhar as ações da Vigilância Sanitária do município de Jaboticabal.

2. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

2.1 Estratégias educacionais teóricas

Os médicos veterinários residentes do PRAPS-MVS tiveram aulas teóricas divididas em quatro módulos temáticos, sendo abordado no módulo 1: Epidemiologia e Políticas Públicas de Saúde; no módulo 2: Zoonoses no contexto de Saúde Única, Vigilância epidemiológica e Ética no enfrentamento das emergências sanitárias; no módulo 3: Hospital Veterinário como unidade sentinela de saúde pública, Diagnóstico diferencial das zoonoses e Ética no ambiente hospitalar; e no módulo 4: Reprodução animal. Além das aulas teóricas sobre Metodologia Científica I e II.

As aulas teóricas foram ministradas por professores e funcionários técnicos da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV/UNESP), palestrantes convidados e por

preceptores da área da Saúde do município, ocorrendo semanalmente, no período da manhã, e anterior ao início das atividades nas subáreas específicas.

Além das aulas expositivas, também fizeram parte das estratégias educacionais teóricas a confecção de relatórios mensais e o desenvolvimentos das Atividades Complementares I e II – *transformação da rotina médico-veterinária em conhecimento acessível*, que incluem a publicação de artigos científicos ou resumos em congressos, palestras ministradas e a participação em eventos.

Em relação à participação em eventos, durante a residência foi possível realizar os cursos presenciais listados abaixo:

- “Qualidade e Tecnologia da Carne”. XXI Simpósio de Produção Animal – SIMPROPIRA, Pirassununga/SP, 2025.
- “Aperfeiçoamento Teórico-prático em Microbiologia dos Alimentos”. Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia/MG, 2024
- Congresso Nacional de Qualidade de Carne. Laboratório de Análise de Alimentos de Origem Animal – LAORA, Jaboticabal/SP, 2024.

Também participar como ouvinte em eventos científicos *on-line* relacionados a subárea de interesse:

- “I Curso de Atualização em Rotulagem de Alimentos”. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ/UNESP), Câmpus de Botucatu, 2025.
- “II Curso de Atualização em APPCC – Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle: da teoria à aplicação prática”. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ/UNESP), Câmpus de Botucatu, 2025.
- “II Curso de Atualização em Boas Práticas de Fabricação: da teoria à aplicação prática”. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ/UNESP), Câmpus de Botucatu, 2025.
- “IX Curso Avançado de Microbiologia de Alimentos – Online – Edição: Métodos de análises microbiológicas”. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ/UNESP), Câmpus de Botucatu, 2024.

Como membro organizador da Liga Acadêmica de Saúde Pública da FCAV/UNESP:

- “VII Curso de Imersão em Tópicos de Saúde Pública”. Liga Acadêmica de Saúde Pública da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus Jaboticabal/SP, 2024.

Por fim, na confecção de roteiros de estudo utilizados nas aulas práticas do Prof. Dr. Mateus de Souza Ribeiro Mioni, para a disciplina de “Microbiologia de Alimentos e Inspeção de Leite, Ovos e Mel”, ocorridas no Departamento de Patologia, Reprodução e Saúde Única, sobre os temas:

- Boas práticas no laboratório.
- Microrganismos mesófilos e psicrotróficos.
- Estafilococos coagulase positiva.
- Coliformes e *Escherichia coli*.
- *Salmonella* spp.
- Família Enterobacteriaceae.
- Bolores e Leveduras.
- Análises físico-químicas de leite.

2.2 Estratégias educacionais teórico-práticas

As atividades teórico-práticas desenvolvidas tiveram como tema a “Posse Responsável de Animais de Companhia” e foram realizadas em Escolas Municipais de Ensino Básico, em conjunto a outros residentes do PRAPS-MVS, com objetivo de promover educação em saúde direcionada a crianças, a partir da conversa sobre zoonoses transmitidas por cães e gatos, alimentação adequada de animais domésticos e vacinação.

2.3 Estratégias práticas junto à Saúde Pública

No âmbito da Saúde Pública, foi possível acompanhar as ações de fiscalização da Vigilância Sanitária, sob orientação da médica veterinária Dra. Mariana Miotto. Essas ações envolveram o controle de bens de consumo e equipamentos, além da fiscalização de estabelecimentos de interesse à saúde, incluindo mercados, restaurantes, hospitais, laboratórios, consultórios de estética e clínicas veterinárias, com o objetivo de eliminar, diminuir ou prevenir riscos à população.

Ainda em relação às atividades junto à Saúde Pública, participei da campanha municipal de vacinação antirrábica em cães e gatos, da campanha de vacinação contra influenza e da Conferência Municipal de Saúde – *O desafio da implementação da rede de cuidado como saúde única*.

Adicionalmente, colaborei no projeto de extensão universitária coordenado pelo Prof. Dr. Estevam G. Lux Hoppe – “Animais & Humanos: difusão de informações para assegurar a coexistência harmoniosa” – contribuindo com o tema “Conscientização sobre manejo de alimentos: Por que é arriscado lavar a carne de frango antes do consumo?”.

Por fim, participei das atividades promovidas pela Profa. Dra. Karina Paes Bürger no Centro de Referência da Assistência Social (CRAS) e na ONG Fênix de Jaboticabal, além da produção de conteúdos técnico-informativos para as redes sociais do PRAPS-MVS, correlacionando a Vigilância Sanitária de Alimentos com a Saúde Pública.

2.4 Atividades na subárea específica

Na subárea de Vigilância Sanitária de Alimentos, atuei em análises microbiológicas, físico-químicas e moleculares de alimentos e água, realizadas no período de março de 2024 a fevereiro de 2026, no Laboratório de Segurança dos Alimentos (LaSA), vinculado ao Departamento de Patologia, Reprodução e Saúde Única da FCAV/UNESP.

As análises microbiológicas tiveram como objetivo isolar microrganismos patogênicos ou indicadores de condições higiênico-sanitárias, como *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens*, Enterobacteriaceae, estafilococos coagulase positiva, bolores e leveduras em amostras enviadas por empresas ou solicitantes particulares ao LaSA.

Entre as amostras recebidas estavam incluídos: açaí, sorvete, carne bovina, água, leite e produtos em conserva (Tabela 1), que foram analisadas seguindo os padrões microbiológicos estabelecidos pelas Instruções Normativas do Ministério da Saúde/Agência Nacional de Vigilância Sanitária IN nº 161/2022 e IN nº 313/2024. Posteriormente, os laudos técnicos foram elaborados pelas residentes do laboratório e encaminhados ao orientador, Prof. Dr. Mateus Mioni, para conferência, assinatura e envio aos solicitantes.

Tabela 1. Análises microbiológicas de alimentos e água realizadas no LaSA por tipo de amostra, quantidade analisada e microrganismos pesquisados

Amostra	Quantidade Analisada		Microrganismos Pesquisados
	2024	2025	
Gelados comestíveis	7	8	Aeróbios mesófilos Bolores e leveduras Enterobacteriaceae Estafilococos coagulase positiva <i>Salmonella</i> spp. <i>*L. monocytogenes</i> e NMP <i>E. coli</i>
Nozes, amêndoas e sementes comestíveis	3	0	Enterobacteriaceae Estafilococos coagulase positiva <i>Salmonella</i> spp.
Pasta de base láctea pasteurizada	8	0	Enterobacteriaceae Estafilococos coagulase positiva <i>Salmonella</i> spp.
Conserva de peixe	0	1	Enterobacteriaceae <i>C. perfringens</i> <i>Salmonella</i> spp.
Água potável	0	17	NMP Coliformes Totais e <i>E. coli</i>
Leite cru refrigerado	0	1	Contagem bacteriana total
Carne bovina resfriada ou congelada	0	3	<i>E. coli</i> <i>Salmonella</i> spp. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Total	18	27	

**L. monocytogenes e Número Mais Provável (NMP) de E. coli em açaí voltado para exportação. Referência: Compendium of Microbiological Criteria for Food, Food Standards Australia New Zealand, July 2025.*

Fonte: Autora

Já as análises físico-químicas foram realizadas em amostras de carne bovina, para avaliar se os produtos estavam em início de decomposição, e em água para a verificação dos parâmetros de dureza, matéria orgânica, cloro residual livre e pH, de acordo com os padrões de potabilidade estabelecidos pelas Portarias GM/MS nº 2.914/2011 e nº 888/2021 (Tabela 2).

Também em amostras de mel para as análises de açúcares redutores, açúcares totais e sacarose aparente, conforme descrito nos métodos oficiais da AOAC International 923.09 (titulação de Lane-Eynon) e 920.184 (Sacarose em mel), sendo a determinação de açúcares redutores (glicose e frutose) foi realizada por titulação, com base na redução de uma quantidade conhecida de cobre do reagente de Fehling pelos açúcares presentes na amostra. Enquanto a determinação da sacarose foi realizada indiretamente, por meio de hidrólise ácida, com sua conversão em açúcares redutores, e o teor calculado pela diferença entre os valores de açúcares totais presentes na amostra e redutores determinados antes e após a hidrólise.

Tabela 2. Análises físico-químicas de alimentos e água realizadas no LaSA

Amostra	Análises Realizadas	Quantidade	
		2024	2025
Água potável	pH		
	Cloro residual livre	3	16
	Matéria orgânica		
	Dureza		
Mel	Açúcares redutores		
	Açúcares totais	3	0
	Sacarose aparente		
Carne bovina resfriada ou congelada	pH		
	Prova de Éber	0	3
	Prova de H ₂ S		
Total		6	19

Fonte: Autora

Paralelamente às análises microbiológicas e físico-químicas, a residência na subárea de alimentos também permitiu contribuir em pesquisas científicas envolvendo (I) o isolamento e a identificação de *Brucella abortus* em amostras de leite cru bovino e de suabes de teteiras; (II) a coleta de amostras de fígado e carcaças, em abatedouros de aves e suínos, para análises

microbiológicas e moleculares de *Campylobacter* spp.; e (III) auxiliar os alunos de iniciação científica no desenvolvimento de seus projetos no Laboratório de Segurança dos Alimentos.

Houve também a oportunidade de participar das aulas práticas ministradas pelo Prof. Dr. Mateus Mioni, tanto para os alunos de graduação em Medicina Veterinária quanto para os da pós-graduação *stricto sensu* em Ciências Veterinárias, sobre técnicas de contagem de microrganismos indicadores da qualidade higiênico-sanitária, além da pesquisa de patógenos em processos produtivos.

Por fim, a residência em Vigilância Sanitária de Alimentos proporcionou uma experiência prática na rotina laboratorial, incluindo o preparo de materiais para análises, a limpeza de vidrarias, a esterilização de meios de cultura, a organização do laboratório, o controle da temperatura dos equipamentos e o descarte adequado de resíduos biológicos.

2.5 Estágio opcional de residência

O estágio facultativo tem como objetivo proporcionar a vivência em ambientes relevantes para o aprendizado dos médicos veterinários, sendo realizado exclusivamente no segundo ano de residência (R2) e com duração máxima de 30 dias corridos. Entretanto, o estágio na Zanchetta Alimentos Ltda. ocorreu no período de 08 de dezembro de 2025 a 30 de janeiro de 2026, totalizando 54 dias corridos, como forma de atender à solicitação da empresa, que exigiu a disponibilidade de dois meses para estagiar, motivo pelo qual a residente usou o seu período de recesso para completar o tempo necessário.

A unidade de Boituva/SP do Grupo Zanchetta, é caracterizada como um abatedouro frigorífico de frangos de corte, registrado no Serviço de Inspeção Federal (SIF) sob o número 2758 e comercializa seus produtos sob a marca Alliz, tanto congelados, voltados para a exportação à países da União Europeia, África do Sul, China, Japão, México e Chile; quanto produtos resfriados ou congelados, voltados ao mercado interno.

No setor de Garantia da Qualidade, as atividades desenvolvidas pela residente consistiram em monitorar, junto aos Controladores da Qualidade, todas as etapas do processo produtivo, desde o recebimento das aves até a expedição dos produtos, como forma de assegurar o bem-estar animal, permitir o controle dos processos, a rastreabilidade dos produtos e atender às legislações nacionais e internacionais vigentes, para garantir a segurança dos alimentos.

A título de exemplo, foi possível monitorar as Boas Práticas de Fabricação (BPF) por meio da observação da higiene pessoal dos colaboradores e do uso adequado de uniformes e

equipamentos de proteção individual (EPIs). Também a higienização operacional das instalações e dos equipamentos em pausas programadas durante a produção, bem como o controle de temperaturas em diferentes etapas da produção, incluindo os esterilizadores de facas, o sistema de pré-resfriamento de carcaças e miúdos e os produtos já embalados.

Além disso, foram monitorados os Pontos Críticos de Controle (PCC), visando a prevenção e eliminação de perigos (I) biológicos, como as contaminações de origem gastrointestinal em carcaças e órgãos; (II) físicos, a exemplo de metais e plásticos, para os quais o frigorífico tem máquinas de raio x e detectores de metais; e (III) químicos, por meio da verificação dos períodos de carência de antibióticos administrados nas aves antes do abate.

Também a realização de testes exigidos pelo Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA), sendo eles a absorção, que avalia a porcentagem de água absorvida pelas carcaças durante o pré-resfriamento por imersão no chiller e que não deve ultrapassar 8% do peso da carcaça; e o gotejamento (Drip Test), que determina a quantidade de água resultante do descongelamento de carcaças com valor limite máximo de 6%.

Outras atividades desenvolvidas na empresa consistiram em observar a rotina dos auxiliares do Serviço de Inspeção Federal na conferência das Guias de Trânsito Animal (GTA) e na realização, junto ao Auditor Fiscal Federal Agropecuário (AFFA), do exame clínico de inspeção *ante mortem* das aves, em busca de sinais de enfermidades com sintomatologia neurológica ou respiratória. Nessa inspeção, observam-se o comportamento dos animais; a coloração e a conformação dos olhos, cristas e barbelas; sinais de canibalismo; lesões no peito ou no dorso; avaliação das articulações e das patas; e a verificação do acúmulo de alimento no papo.

Posteriormente, as carcaças entram na sala de evisceração, onde foi possível realizar a inspeção junto aos auxiliares do SIF nas linhas A (exame interno das carcaças), linha B (exame das vísceras) e linha C (exame externo) e, nos casos de lesões inflamatórias, lesões de pele, falhas tecnológicas durante o abate ou contaminações, as carcaças são desviadas para o Departamento de Inspeção Final (DIF), que faz a destinação adequada – condenação parcial ou total – de acordo com os critérios estabelecidos pelo Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA).

Por fim, outras atividades acompanhadas envolveram o monitoramento da área externa da empresa, a partir do controle integrado de pragas; da observação do funcionamento adequado

das barreiras sanitárias, como os lavadores de botas e de mãos; a limpeza e organização de vestiários e sanitários; além da correta separação e armazenamento, por cores, dos uniformes na lavanderia da empresa.

Diante do exposto, o estágio na Zanchetta Alimentos Ltda. permitiu a consolidação dos conhecimento teóricos adquiridos ao longo da minha formação como médica veterinária, por meio da aplicação prática de conteúdos relacionados à inspeção de produtos de origem animal, programas de autocontrole, segurança dos alimentos, legislações sanitárias e bem-estar animal, além de possibilitar a vivência na atuação do controle de qualidade dentro de um abatedouro frigorífico sob inspeção federal, contribuindo para a minha formação profissional.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Programa de Residência em Área Profissional da Saúde – Medicina Veterinária e Saúde proporcionou uma visão ampla em Saúde Única e a necessidade de atuação conjunta de todas as subáreas da medicina veterinária na promoção da saúde humana, animal e ambiental.

De modo especial, a atuação na subárea de Vigilância Sanitária de Alimentos contribuiu significativamente para o meu desenvolvimento técnico e acadêmico, devido ao acesso a conhecimentos e práticas que até então não integravam minha trajetória profissional, possibilitando a ampliação das minhas competências e maior segurança para atuar na minha área de trabalho.

**CAPÍTULO II – ANTIMICROBIAL RESISTANCE OF ENTEROBACTERIA
ISOLATES FROM FOOD-HANDLING SURFACES AND UTENSILS**

ABSTRACT

The Enterobacteriaceae family consists of bacteria that indicate hygienic–sanitary quality in food manufacturing processes and pathogens of public health interest. These microorganisms are widely distributed in the environment, can be transmitted through water and food, and exhibit variable phenotypic resistance profiles to different classes of antimicrobials, with some strains classified as multidrug-resistant. In this context, the present study evaluated antimicrobial resistance in Enterobacteriaceae isolated from food-handling surfaces and kitchen sponges using the Kirby–Bauer disk diffusion method. The selection of antimicrobial agents and the interpretation of results followed the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) breakpoints and isolates were characterized by mass spectrometry (MALDI-TOF MS). As a result, 87 isolates were obtained, with 26.4% of enterobacteria isolates ($n = 23$) were sensitive to all antimicrobials tested, 62.0% ($n = 54$) were resistant to two or fewer compounds, and 3.4% ($n = 3$) were multidrug-resistant, with the highest percentage of resistance to amoxicillin/clavulanic acid. The predominant species were *Klebsiella pneumoniae* and *Enterobacter asburiae*. The study highlighted kitchen sponges as potential reservoirs of resistant Enterobacteriaceae and emphasized the role of hygienic–sanitary practices in cross contamination and in the silent dissemination of antimicrobial resistance to consumers.

Keywords: Enterobacteriaceae; Antimicrobials; Disk diffusion; Food safety.

1. INTRODUCTION

Antimicrobial resistance (AMR) occurs when microorganisms previously sensitive to antimicrobial agents, such as antibiotics, antivirals, antifungals, and antiparasitics, are subjected to selective pressure and acquire mechanisms that reduce or nullify the effectiveness of these substances (Blanco et al., 2016; Naghavi et al., 2024). As a consequence, commercially available drugs become less effective in preventing and treating infections, favoring the spread of resistant bacteria and representing a growing concern for global public health (Magiorakos et al., 2012).

Scientific evidence indicates that antimicrobial resistance is an inherent property of the bacterial genome. Resistance-associated genes have been identified in DNA extracted from sediments approximately 30,000 years old, including genes encoding resistance to beta-lactams, tetracyclines, and glycopeptides (Dcosta et al., 2011). In addition, bacterial strains isolated from environments without anthropogenic influence, dating back more than four million years, have demonstrated resistance to multiple antimicrobial classes, indicating that AMR occurs naturally in the environment, independently of human action (Bhullar et al., 2012).

Despite intrinsic resistance, several anthropogenic factors contribute to the selection and spread of resistant microorganisms, such as the inappropriate use of antimicrobials in human and animal infection treatments; their use as zootechnical additives in animal production; their extensive use in agriculture; and contamination by drug residues discarded in the environment (Casals-Pascual et al., 2018; Martins et al., 2019).

Furthermore, antimicrobial use in animals poses a risk to humans, as many antibiotic classes employed in veterinary medicine are also used in human medicine, enabling the transfer of resistant bacteria through the food chain (Tekiner & Özpınar, 2016). Thus, utensils, foods, water, and vegetables may act as important sources of exposure to resistant bacteria for consumers (Jung et al., 2022).

Among the most relevant microorganisms, the Enterobacteriaceae family includes important waterborne and foodborne pathogens responsible for severe infections in humans, with some species exhibiting multidrug resistance, defined as resistance to three or more antimicrobial classes. This characteristic is related to the ability of enterobacteria to acquire and transfer genetic material through mobile genetic elements, such as plasmids and transposons, thereby facilitating the acquisition of resistance-associated genes (Partridge, 2015).

The detection of enterobacteria in foods, such as *Escherichia coli* and *Salmonella* spp., indicates failures in hygienic and sanitary conditions during handling or processing stages. Consequently, resistant pathogens may disseminate through the food production chain to the final consumer (Jung et al., 2022; Lazou & Chaintoutis, 2023).

The main source of contamination in meats by enteric pathogens, such as *E. coli*, *Salmonella* spp., and *Campylobacter* spp., is fecal contamination of carcasses, while in vegetables, it is believed to occur through contact with soil, irrigation water, animals, agricultural workers, and during food handling (Jung et al., 2022).

As for water used for human consumption, irrigation, or recreational activities, the presence of *E. coli* is indicative of fecal contamination and is influenced by socioeconomic and sanitary factors, such as inadequate basic sanitation, which promotes the contamination of water bodies and dissemination of resistant pathogens (Bartley et al., 2019; Kumar et al., 2013).

Food-handling surfaces and utensils also pose a significant risk, as they may facilitate cross-contamination between foods, surfaces, and handlers' hands. Kitchen sponges, widely used for cleaning, may harbor high bacterial loads due to food residue accumulation and moisture, ranging from 6 to 9 log CFU/sponge. Although non-pathogenic microorganisms predominate, pathogens may also be present and transferred to other surfaces during use (Møretro et al., 2021).

Thus, the present study aimed to evaluate antimicrobial resistance in isolates obtained from food handling surfaces and cleaning sponges collected from commercial establishments and residences.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 Sampling

Samples were collected from food-handling surfaces (n = 6) in commercial establishments using sterile swabs from knives and plastic cutting boards used to cut meat and vegetables. The sampling area was 100 cm² or the entire irregular surface area of utensils and the swabs were stored in 9 mL 0,9% sterile saline solution. Kitchen sponges (n = 7) were collected from commercial and residential environments and placed in sterile sampling bags containing 225 mL of 0,9% sterile saline solution.

Sampling was performed by convenience, and the samples were immediately sent to the Food Safety Laboratory at the São Paulo State University (Jaboticabal, Brazil) for Enterobacteriaceae isolation and subsequent antimicrobial susceptibility testing using the disk diffusion (Kirby–Bauer) method.

2.2 Isolation of Enterobacteriaceae

The isolation followed the methodology described by the International Organization for Standardization (ISO, 2017), yielding a total of 87 isolates. Initially, serial dilutions were performed in 0.9% sterile saline solution, followed by selective plating on Violet Red Bile Glucose agar using the pour plate method with overlay. After incubation for 24 h at 37 °C, dark purple colonies surrounded by reddish halos were selected and stored in Brain Heart Infusion broth at -80 °C for subsequent antimicrobial susceptibility testing. For isolate purification, samples were subcultured on nutrient agar, incubated for 24 h and Gram staining was performed to confirm the presence of Gram-negative bacteria.

2.3 Identification of isolates by Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight (MALDI-TOF MS)

Enterobacteriaceae isolates were subcultured on nutrient agar and sent to the Milk Quality Research Laboratory at the University of São Paulo (Pirassununga, Brazil) for MALDI-TOF MS analysis. On-plate protocol was performed following the 24 h incubation of the bacterial culture and one colony was applied to the steel plate spot with the aid of a wooden stick. Subsequently, 1,0 µL of formic acid solution (70%) was applied to the spot and air-dried at room temperature for approximately 15 min. Spots were overlaid with 1,0 µL of HCCA matrix solution (α -cyano-4-hydroxycinnamic acid diluted in 50% acetonitrile and 2.5% trifluoroacetic acid). The plate was left to dry at room temperature for analysis by MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics®). Spectral data were analyzed over the range of 2,000 to 20,000 m/z using FlexControl 3.3 software. Identification at genus and species levels was accepted for isolates with spectral scores ≥ 1.7 and ≥ 2.0 , respectively (Barcelos et al., 2019; Rodrigues et al., 2025).

2.4 Antimicrobial susceptibility testing

The sensitivity profiles were determined by the disk diffusion method, testing 10 antimicrobial classes: penicilins (amoxicilin/acid clavulanic – AMC 20/10 µg), cephalosporins (ceftiofur – CTF 30 µg; ceftazidime – CAZ 30 µg; cefotaxime – CTX 5 µg), carbapenems (imipenem – IPM 10 µg), monobactams (aztreonam – ATM 30 µg), aminoglycosides

(gentamicin – GEN 10 µg), tetracyclines (tetracycline – TET 30 µg), fluoroquinolones (ciprofloxacin – CIP 5 µg), folate inhibitors (sulfamethoxazole/trimethoprim – SUT 23,75/1,25 µg), phenicols (chloramphenicol – CLO 30 µg) and macrolides (azithromycin – AZI 15 µg). Antimicrobial selection and concentrations followed the M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing guidelines (CLSI, 2023). *Escherichia coli* ATCC 25922 was used as the quality control strain.

Inoculum standardization was performed by suspending colonies in sterile 0.9% saline solution and adjusting turbidity to a 0.5 McFarland standard, determined spectrophotometrically at 625 nm (Thermo Spectronic BioMate 3) between 0.08 to 0.13 (CLSI, 2012). Within 15 min, suspensions were inoculated onto Mueller-Hinton agar plates using sterile swabs. Antimicrobial disks were applied within 15 min after inoculation, and plates were incubated inverted at 35 °C for 20 h. Inhibition zone diameters were measured, and susceptibility profiles were interpreted according to CLSI criteria (CLSI, 2023).

2.5 Statistical analysis

The results were analyzed for absolute and relative frequencies of resistance for each antimicrobial, based on isolate classification as susceptible (S), intermediate (I), or resistant (R). Resistance frequency was expressed as the proportion of resistant isolates relative to the total tested for each antimicrobial.

For resistance profile analysis, antimicrobials were grouped by class, and isolates were classified as resistant if they exhibited resistance to at least one antimicrobial within that class, or non-resistant if results were exclusively susceptible and/or intermediate.

The association between sample origin (commercial or residential) and resistance profile was evaluated using the chi-square (χ^2) test or Fisher's exact test when assumptions were not met. A significance level of 5% ($p < 0.05$) was adopted, using Jamovi® software version 2.6.

3. RESULTS

A total of eighty-seven Enterobacteriaceae isolates were obtained from food-handling surfaces and kitchen sponges, of which 48 (55%) originated from commercial establishments and 39 (45%) from residential environments. Table 3 summarizes the origin of the analyzed samples and the number of isolates obtained in each category evaluated.

Table 3. Origin of isolates, number of samples analyzed and number of Enterobacteriaceae isolates obtained

Origin	No. of samples	No. of isolates (%)
Commercial surface	6	23 (26%)
Commercial sponge	3	25 (29%)
Household sponge	4	39 (45%)
Total	13	87 (100%)

Source: Author

Identification by MALDI-TOF MS revealed that the most prevalent microorganisms were *Klebsiella pneumoniae* (26%; 23/87), *Enterobacter asburiae* (23%; 20/87), *Enterobacter xiangfangensis* (13%; 11/87) and *Pantoea* sp. (13%; 11/87), with additional species listed in Table 4. Overall, the isolates exhibited susceptibility to most antimicrobials tested; however, three isolates were classified as multidrug-resistant.

Table 4. Distribution of Enterobacteriaceae isolates identified by MALDI-TOF MS

Species	Origin	No. of isolates (%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Kitchen sponge*	23 (26%)
<i>Enterobacter asburiae</i>	Kitchen sponge*	20 (23%)
<i>Enterobacter xiangfangensis</i>	Kitchen sponge*	11 (13%)
<i>Pantoea</i> sp.	Commercial surface	11 (13%)
<i>Enterobacter kobei</i>	Kitchen sponge* and Commercial surface	6 (7%)
<i>Enterobacter hormaechei</i>	Kitchen sponge* and Commercial surface	5 (6%)
<i>Klebsiella variicola</i>	Kitchen sponge* and Commercial surface	5 (6%)
<i>Leclercia adecarboxylata</i>	Kitchen sponge*	2 (2%)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Commercial surface	1 (1%)
<i>Raoultella planticola</i>	Commercial surface	1 (1%)
<i>Kosakonia cowanii</i>	Commercial surface	1 (1%)
Unidentified isolate	Kitchen sponge*	1 (1%)
Total		87 (100%)

*Kitchen sponge from commercial and/or household settings.

Source: Author

3.1 Frequency of resistance

Resistance frequency results were expressed as absolute and relative frequencies, with isolates classified as sensitive (S), intermediate (I) or resistant (R), according to the cut-off point established by the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2023) as described in the M100 document (Table 5). The analysis identified differences in the distribution of sensitivity profiles among the tested antimicrobials, highlighting classes with higher and lower frequencies of resistance among the evaluated isolates. A higher frequency of resistance was observed for

AMC, while the other antimicrobials exhibited either low resistance frequencies or no resistant isolates.

Table 5. Frequency of antimicrobial resistance in Enterobacteriaceae isolates

Antimicrobial	S (%)	I (%)	R (%)
AMC	35(40,2)	2(2,3)	50(57,5)
CTX	78(89,7)	5(5,7)	4(4,6)
CAZ	80(92,0)	3(3,4)	4(4,6)
CTF	85(97,7)	2(2,3)	0(0)
ATM	86(98,9)	1(1,1)	0(0)
IPM	85(97,7)	2(2,3)	0(0)
GEN	83(95,4)	1(1,1)	3(3,4)
CIP	81(93,1)	4(4,6)	2(2,3)
TET	83(95,4)	2(2,3)	2(2,3)
AZI	76(87,4)	11(12,6)	0(0)
CLO	87(100,0)	0(0)	0(0)
SUT	86(98,9)	1(1,1)	0(0)

S, sensitive; *I*, intermediate; *R*, resistant; AMC, amoxicillin/clavulan; CTX, cefotaxime; CAZ, ceftazidime; CTF, ceftiofur; ATM, aztreonam; IPM, imipenem; GEN, gentamicin; CIP, ciprofloxacin; TET, tetracycline; AZI, azithromycin; CLO, chloramphenicol; SUT, sulfamethoxazole/trimethoprim.

Source: Author

3.2 Antimicrobial resistance profile

Isolates were classified according to the number of antimicrobial classes to which they exhibited resistance, as described in the methodology. The results are presented in Table 6, in which the isolates were categorized as sensitive to all antimicrobials tested, resistant to a maximum of two classes, or multidrug-resistant. Three multidrug-resistant isolates obtained from sponges of commercial establishments were identified by MALDI-TOF MS, two of which were characterized as *K. pneumoniae* with distinct resistance profiles: AMC-CIP-AZI and CTX-GEN-TET, respectively, and one isolate of *E. hormaechei* with an MDR profile of AMC-GEN-AZI-SUT.

Table 6. Antimicrobial resistance profile according to the number of classes and surfaces evaluated

Antimicrobial resistance profile	Food-handling surfaces	Kitchen sponges	Total
Sensitive to all classes	13	17	30
Resistant (1 – 2 classes)	10	44	54
Multidrug-resistant (≥ 3 classes)	0	3	3
Total	23	64	87

Source: Author

A statistically significant association was observed between the origin of the samples and resistance to penicilins ($p = 0.002$), cephalosporins ($p = 0.002$) and aminoglycosides ($p = 0.038$). Resistance to penicillins and aminoglycosides was more frequent in isolates from sponges, while resistance to cephalosporins was associated with isolates obtained from foodhandling surfaces. For the other antimicrobial classes evaluated, no significant association between sample origin and resistance profile was observed ($p > 0.05$).

No overall difference in antimicrobial resistance and isolates from residential and commercial establishments was observed. However, statistically significant differences were identified for specific classes of antimicrobials, with a higher frequency of penicillin resistance in isolates from homes ($p = 0.002$) and a higher frequency of cephalosporin resistance in isolates from commercial establishments ($p = 0.002$). For the other classes evaluated, resistance profiles were similar across environments ($p > 0.05$).

4. DISCUSSION

The results of this study demonstrate that, although most Enterobacteriaceae isolates from food-handling surfaces and kitchen sponges were sensitive to the antimicrobials evaluated, a high frequency of AMC resistance was observed, along with the occurrence of MDR isolates even at a low frequency. Resistance was associated with the origin of the sample and the type of environment evaluated, suggesting that sponges may serve as potential reservoirs. Furthermore, the absence of resistance to carbapenems and the use of Enterobacteriaceae as indicator organisms provide relevant context for interpreting the findings,

allowing discussion of the influence of hygiene practices and the selective pressure exerted in domestic and commercial environments.

The observed resistance patterns in Enterobacteriaceae may be partially explained by the widespread use of antimicrobials not only for therapeutic purposes in humans and animals, but also for non-therapeutic applications in animal production. These include prophylactic use (i.e., administration to prevent disease in herds) and metaphylactic use (i.e., administration to clinically healthy animals when some individuals already show signs of infection), as well as their use as growth promoters at sub-therapeutic doses (Sagar et al., 2023; Samtiya et al., 2022).

In this context, the extensive and often inappropriate use of antimicrobials in food-producing animals contributes to the selection of resistant bacterial populations. These bacteria, carrying resistance genes, can be transmitted to humans through the food chain, either directly via the consumption of raw or undercooked foods, through cross-contamination during food handling, or indirectly via environmental pathways (Bennani et al., 2020).

Globally, antimicrobial resistance is considered one of the main threats to public health. Estimates indicate that, by the year 2050, AMR could be responsible for up to 10 million deaths annually worldwide. In this regard, restrictions on the use of antimicrobials are being evaluated internationally, both in human medicine and in livestock production, through regulations that seek to prevent the spread of antimicrobial resistance (Naghavi et al., 2024). Thus, the presence of resistant and multidrug-resistant Enterobacteriaceae observed in the present study reinforces the role of food-handling environments as potential points of dissemination of antimicrobial resistance.

The high frequency of resistance to amoxicillin/clavulanic acid (57.5%) observed may be associated with the production of different β -lactamases by Enterobacteriaceae, including penicillinases and chromosomal cephalosporinases (e.g., *AmpC*), as well as mechanisms such as β -lactamase hyperproduction and reduced outer membrane permeability. These mechanisms can compromise the effectiveness of β -lactam/ β -lactamase inhibitor combinations, such as amoxicillin/clavulanic acid (Partridge, 2015). Extended-spectrum β -lactamase (ESBL) producing Enterobacteriaceae are of particular public health concern due to their broad resistance profiles, especially to third-generation cephalosporins and monobactams, and their frequent association with resistance to other antimicrobial classes (Ye et al., 2018). However, in the present study, the low frequency of resistance to third-generation cephalosporins and

aztreonam suggests that ESBL production was not a predominant phenotype among the isolates evaluated.

A study conducted in southern Italy analyzed Enterobacteriaceae isolates from raw and ready-to-eat foods, such as milk and dairy products, meats, vegetables, and seafood, using samples collected from retail markets between 2018 and 2023. 31 multidrug-resistant isolates were obtained, with resistance to ampicillin, cefazolin, and cefotaxime; variable sensitivity to tetracycline and aztreonam; and sensitivity to imipenem. Molecular analysis identified the predominance of *Escherichia coli* (65%), *Klebsiella pneumoniae* (19%), *Enterobacter hormaechei* (6%), and *Salmonella enterica* (6%), which are opportunistic pathogens associated with food contamination (Fraccalvieri et al., 2025). Similarly, 182 Enterobacteriaceae isolates were obtained from ready-to-eat foods distributed in community and hospital cafeterias in Rome, Italy, with a high frequency of multidrug-resistant strains (48.4%), mainly to penicillins, variable sensitivity to cephalosporins, and maintenance of the effectiveness of aminoglycosides and carbapenems, with the prevalent genera being *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Klebsiella* spp., and *Pantoea* spp. (Vincenti et al., 2018).

In this context, the results reported by the authors corroborate the findings of the present study, highlighting the resistance of Enterobacteriaceae species such as *Klebsiella pneumoniae* and *Enterobacter* spp. to penicillins and cephalosporins and the presence of a multidrug resistant profile, albeit at low frequency. Additional molecular analyses would be necessary to detect genes associated with ESBL production. Furthermore, resistance to amoxicillin/clavulanic acid may reflect selective pressure associated with the widespread use of β -lactam antibiotics in both human and animal settings, contributing to the persistence of resistant Enterobacteriaceae along the food chain and in domestic environments (Tsitsos et al., 2024).

Conversely, the sensitivity to imipenem observed in all isolates in this study can be explained by the high efficacy of carbapenems, which are commonly employed as last-resort antibiotics for the treatment of infections caused by multidrug-resistant bacteria and nosocomial infections. Their restricted use in the hospital environment limits selective pressure and the transfer of resistance genes between microorganisms, although studies report the presence of carbapenem-resistant *K. pneumoniae* in food (Harding-Crooks et al., 2023; Junaid et al., 2022). Furthermore, carbapenem residues and carbapenemase-producing bacteria have been detected

in hospital effluents, wastewater, food of animal origin, seafood, and vegetables; however, these occurrences have been associated with environmental contamination (Caliskan-Aydogan & Alocilja, 2023), not necessarily reflecting selective pressure occurring directly in domestic or commercial environments.

In these environments, food is an important source for the spread of deteriorating and pathogenic bacteria, due to contamination that can occur at various stages of the production chain until it reaches the consumer, both through contact with bacteria found in soil, water, and human or animal feces; as well as through cross-contamination during food processing and handling (Samtiya et al., 2022), with the presence of Enterobacteriaceae on surfaces and kitchen utensils an indicator of poor hygiene practices due to being associated with microorganisms of enteric origin (Harding-Crooks et al., 2023).

Kitchen cleaning sponges have a high potential to harbor microorganisms owing to the accumulation of moisture and food residue, which favors bacterial multiplication, biofilm formation, and pathogen dissemination, leading to cross-contamination between hands, utensils, and food, as demonstrated by the presence of *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *E. coli*, *Campylobacter* spp., *Proteus* spp., *Salmonella* spp., and *Staphylococcus* spp. (Cardinale et al., 2017). Furthermore, the high loads of commensal bacteria found in sponges highlight flaws in good practices, such as prolonged use of the utensil, poor hygiene, and its application in cleaning multiple surfaces (Møretro et al., 2022).

Similarly, handling surfaces like cutting boards for meats and vegetables are frequently associated with cross-contamination and foodborne outbreaks due to food handlers' habits, the preservation of the material, and the presence of cracks that promote microbial adhesion, hindering proper cleaning (Mataragka et al., 2025). Although the role of kitchen surfaces and utensils in the transmission of bacteria and antimicrobial resistance genes is not well established in the literature, both can be disseminators of pathogens resistant to humans through cross contamination during the handling of raw foods or through the consumption of products that have not been subjected to preservation techniques such as pasteurization, freezing, use of ultraviolet light, acidification, or the use of modified atmosphere packaging, implying the transmission of pathogens to humans (Bennani et al., 2020; Verraes et al., 2013).

This study presents some limitations that should be considered when interpreting the results. Sampling was performed by convenience and involved a limited number of food-

handling surfaces and kitchen sponges, which restricts the extrapolation of the findings to other environments or regions. In addition, antimicrobial susceptibility testing relied on phenotypic methods, which do not allow identification of the specific genetic mechanisms underlying observed resistance profiles, such as the presence of extended-spectrum β -lactamases, AmpC enzymes, or other resistance determinants. The absence of molecular characterization also precludes the assessment of horizontal gene transfer potential among isolates. Despite these limitations, the results provide relevant insights into the occurrence of resistant Enterobacteriaceae in domestic and commercial food-handling environments and highlight the importance of hygiene practices in mitigating the dissemination of antimicrobial resistance.

5. CONCLUSIONS

Although resistance to amoxicillin/clavulanic acid is expected among environmental and commensal Enterobacteriaceae, its high frequency, together with the detection of multidrug-resistant isolates, highlights the role of food-handling environments as reservoirs of antimicrobial-resistant bacteria. Kitchen sponges and food-contact surfaces, particularly when hygiene and sanitation practices are inadequate, may facilitate the persistence and dissemination of these microorganisms through cross-contamination. Importantly, even in the absence of classical foodborne pathogens, resistant enterobacteria of commensal origin are epidemiologically relevant, as repeated exposure through food consumption may contribute to the enrichment of the human intestinal resistome. Therefore, failures in good hygiene practices, particularly inadequate sanitization procedures and the prolonged use of kitchen sponges, should be considered not only a risk for foodborne infections, but also a silent pathway for the dissemination of antimicrobial resistance in domestic and commercial food-handling environments.

6. REFERENCES

- Barcelos, M. M., Martins, L., Grenfell, R. C., Juliano, L., Anderson, K. L., dos Santos, M. V., & Gonçalves, J. L. (2019). Comparison of standard and on-plate extraction protocols for identification of mastitis-causing bacteria by MALDI-TOF MS. *Brazilian Journal of Microbiology*, 50(3), 849–857. <https://doi.org/10.1007/s42770-019-00110-5>
- Bartley, P. S., Domitrovic, T. N., Moretto, V. T., Santos, C. S., Ponce-Terashima, R., Reis, M. G., Barbosa, L. M., Blanton, R. E., Bonomo, R. A., & Perez, F. (2019). Antibiotic resistance in Enterobacteriaceae from surface waters in urban Brazil highlights the risks of poor sanitation. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 100(6), 1369–1377. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.18-0726>
- Bennani, H., Mateus, A., Mays, N., Eastmure, E., Stärk, K. D. C., & Häslér, B. (2020). Overview of evidence of antimicrobial use and antimicrobial resistance in the food chain. In *Antibiotics* (Vol. 9, Number 2). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9020049>

- Bhullar, K., Waglehner, N., Pawlowski, A., Koteva, K., Banks, E. D., Johnston, M. D., Barton, H. A., & Wright, G. D. (2012). Antibiotic resistance is prevalent in an isolated cave microbiome. *PLoS ONE*, 7(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034953>
- Blanco, P., Hernando-Amado, S., Reales-Calderon, J. A., Corona, F., Lira, F., Alcalde-Rico, M., Bernardini, A., Sanchez, M. B., & Martinez, J. L. (2016). Bacterial multidrug efflux pumps: Much more than antibiotic resistance determinants. *Microorganisms*, 4(1). <https://doi.org/10.3390/microorganisms4010014>
- Caliskan-Aydogan, O., & Alocilja, E. C. (2023). A Review of Carbapenem Resistance in Enterobacterales and Its Detection Techniques. In *Microorganisms* (Vol. 11, Number 6). MDPI. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11061491>
- Cardinale, M., Kaiser, D., Lueders, T., Schnell, S., & Egert, M. (2017). Microbiome analysis and confocal microscopy of used kitchen sponges reveal massive colonization by *Acinetobacter*, *Moraxella* and *Chryseobacterium* species. *Scientific Reports*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-06055-9>
- Casals-Pascual, C., Vergara, A., & Vila, J. (2018). Intestinal microbiota and antibiotic resistance: Perspectives and solutions. In *Human Microbiome Journal* (Vol. 9, pp. 11–15). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.humic.2018.05.002>
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2012). Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standards (CLSI document M07-A9., 9th ed.).
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2023). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing (CLSI supplement M100, 33rd ed.).
- Dcosta, V. M., King, C. E., Kalan, L., Morar, M., Sung, W. W. L., Schwarz, C., Froese, D., Zazula, G., Calmels, F., Debruyne, R., Golding, G. B., Poinar, H. N., & Wright, G. D. (2011). Antibiotic resistance is ancient. In *Nature* (Vol. 477, Number 7365, pp. 457–461). <https://doi.org/10.1038/nature10388>
- Fraccalvieri, R., Castellana, S., Bianco, A., Difato, L. M., Capozzi, L., Del Sambro, L., Donatiello, A., Pugliese, D., Tempesta, M., Parisi, A., & Caruso, M. (2025). Isolation of ESBL-Producing Enterobacteriaceae in Food of Animal and Plant Origin: Genomic Analysis and Implications for Food Safety. *Microorganisms*, 13(8). <https://doi.org/10.3390/microorganisms13081770>
- Harding-Crooks, R., Smith, D., Fanning, S., & Fox, E. M. (2023). Dissemination of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and associated resistance determinants through global food systems. In *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* (Vol. 22, Number 4, pp. 2706–2727). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.13159>
- International Organizations for Standardization. (2017). Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae (ISO 21528-2:2017).
- Junaid, K., Ejaz, H., Younas, S., Alanazi, A., Yasmeen, H., & Rehman, A. (2022). Detection of *Klebsiella pneumoniae* antibiotic-resistant genes: An impending source of multidrug resistance dissemination through raw food. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(5), 3347–3353. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.02.020>
- Jung, D., Morrison, B. J., & Rubin, J. E. (2022). A review of antimicrobial resistance in imported foods. In *Canadian Journal of Microbiology* (Vol. 68, Number 1, pp. 1–15). Canadian Science Publishing. <https://doi.org/10.1139/cjm-2021-0234>
- Kumar, S., Tripathi, V. R., & Garg, S. K. (2013). Antibiotic resistance and genetic diversity in waterborne Enterobacteriaceae isolates from recreational and drinking water sources. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 10(4), 789–798. <https://doi.org/10.1007/s13762-012-0126-7>
- Lazou, T. P., & Chaintoutis, S. C. (2023). Comparison of disk diffusion and broth microdilution methods for antimicrobial susceptibility testing of *Campylobacter* isolates of meat origin. *Journal of Microbiological Methods*, 204. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2022.106649>
- Magiorakos, A. P., Srinivasan, A., Carey, R. B., Carmeli, Y., Falagas, M. E., Giske, C. G., Harbarth, S., Hindler, J. F., Kahlmeter, G., Olsson-Liljequist, B., Paterson, D. L., Rice, L. B., Stelling, J., Struelens, M. J., Vatopoulos, A., Weber, J. T., & Monnet, D. L. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: An international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(3), 268–281. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>

- Martins, A., Silva, R. A., Ferreira, L. O., Licate, M. M., Delafiori, C. R., & Pôrto, S. F. (2019). Resistência a antimicrobianos de enterobactérias isoladas de águas destinadas ao abastecimento público na região centro-oeste do estado de São Paulo, Brasil. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, 10(0). <https://doi.org/10.5123/s21766223201900065>
- Mataragka, A., Anthi, R., Christodouli, Z.-E., Malisova, O., & Andritsos, N. D. (2025). Presence of Major Bacterial Foodborne Pathogens in the Domestic Environment and Hygienic Status of Food Cleaning Utensils: A Narrative Review. *Hygiene*, 5(4), 60. <https://doi.org/10.3390/hygiene5040060>
- Møretrø, T., Ferreira, V. B., Moen, B., Almli, V. L., Teixeira, P., Kasbo, I. M., & Langsrud, S. (2022). Bacterial levels and diversity in kitchen sponges and dishwashing brushes used by consumers. *Journal of Applied Microbiology*, 133(3), 1378–1391. <https://doi.org/10.1111/jam.15621>
- Møretrø, T., Moen, B., Almli, V. L., Teixeira, P., Ferreira, V. B., Åsli, A. W., Nilsen, C., & Langsrud, S. (2021). Dishwashing sponges and brushes: Consumer practices and bacterial growth and survival. *International Journal of Food Microbiology*, 337. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108928>
- Naghavi, M., Vollset, S. E., Ikuta, K. S., Swetschinski, L. R., Gray, A. P., Wool, E. E., Robles Aguilar, G., Mestrovic, T., Smith, G., Han, C., Hsu, R. L., Chalek, J., Araki, D. T., Chung, E., Raggi, C., Gershberg Hayoon, A., Davis Weaver, N., Lindstedt, P. A., Smith, A. E., ... Murray, C. J. L. (2024). Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990–2021: a systematic analysis with forecasts to 2050. *The Lancet*, 404(10459), 1199–1226. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(24\)01867-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(24)01867-1)
- Partridge, S. R. (2015). Resistance mechanisms in Enterobacteriaceae. *Pathology*, 47(3), 276–284. <https://doi.org/10.1097/PAT.0000000000000237>
- Rodrigues, C. A., Arabe Filho, M. F., Bello, T. S., Portilho, F. V. R., Listoni, F. J. P., Possebon, F. S., Paz, P. L., Eliam, P. C. L., & Ribeiro, M. G. (2025). Mass spectrometry-based identification of 26 Pasteurella species and in vitro antimicrobial susceptibility pattern of isolates recovered from diseased domestic cats. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 45. <https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-7540>
- Sagar, P., Aseem, A., Banjara, S. K., & Veleri, S. (2023). The role of food chain in antimicrobial resistance spread and One Health approach to reduce risks. In *International Journal of Food Microbiology* (Vols. 391–393). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110148>
- Samtiya, M., Matthews, K. R., Dhewa, T., & Puniya, A. K. (2022). Antimicrobial Resistance in the Food Chain: Trends, Mechanisms, Pathways, and Possible Regulation Strategies. In *Foods* (Vol. 11, Number 19). MDPI. <https://doi.org/10.3390/foods11192966>
- Vincenti, S., Raponi, M., Sezzatini, R., Giubbini, G., & Laurenti, P. (2018). Enterobacteriaceae antibiotic resistance in ready-to-eat foods collected from hospital and community canteens: Analysis of prevalence. *Journal of Food Protection*, 81(3), 424–429. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-17-317>
- Ye, Q., Wu, Q., Zhang, S., Zhang, J., Yang, G., Wang, J., Xue, L., & Chen, M. (2018). Characterization of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae from retail food in China. *Frontiers in Microbiology*, 9(AUG). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01709>