

# Isolamento de *Salmonella* de produtos de frango e perfil de suscetibilidade dos isolados a antimicrobianos

## *Salmonella* isolation from poultry products and antimicrobial susceptibility profile

RIALA6/1099

Rita de Cássia dos Santos da CONCEIÇÃO<sup>1</sup>, Andréa HENTGES<sup>1</sup>, Ângela Nunes MOREIRA<sup>2</sup>, Flávia Aleixo VASCONCELLOS<sup>3</sup>, Ida Maria Ramos ÂNGELO<sup>3</sup>, José Beiro CARVALHAL<sup>2</sup>, José Antônio Guimarães ALEIXO<sup>2,3</sup>, Cláudio Dias TIMM<sup>1\*</sup>

\*Endereço para correspondência: Inspeção de Leite e Derivados, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, CEP 96010-900, Pelotas, RS, Brasil. E-mail: inspleit@ufpel.tche.br.

<sup>1</sup> Inspeção de Leite e Derivados, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), Pelotas, RS, Brasil.

<sup>2</sup> Faculdade de Nutrição, UFPEL, Pelotas, RS, Brasil.

<sup>3</sup> Laboratório de Imunologia Aplicada, Centro de Biotecnologia, UFPEL, Pelotas, RS, Brasil.

Recebido: 13/03/2007 – Aceito para publicação: 30/04/2007

### RESUMO

*Salmonella* Enteritidis tem sido o principal sorotipo causador de salmonelose. O uso de antimicrobianos na prevenção e no tratamento dessa infecção, assim como a utilização destes como promotores de crescimento, tem provocado o aparecimento de cepas resistentes. O trabalho teve por objetivo investigar a presença de *Salmonella* em produtos de frango e verificar a resistência dos isolados frente a agentes antimicrobianos. Foram analisadas 120 amostras de produtos de frango, segundo metodologia preconizada pela Food and Drug Administration. *Salmonella* foi isolada de sete (15,83%) amostras e foram identificados quatro sorotipos, Enteritidis, Newport, Derby e Agona. Enteritidis foi o sorotipo de maior prevalência (71,4%). Trinta e seis (94,7%), 34 (89,5%), 32 (84,2%) e 32 (84,2%) isolados foram sensíveis aos antimicrobianos cloranfenicol, norfloxacina, ciprofloxacina e ampicilina, respectivamente. Trinta e três (86,8%) isolados foram resistentes ao ácido nalidíxico. Todos os isolados (100%) foram sensíveis à ceftriaxona. Vinte e cinco isolados (65,8%) foram resistentes à tetraciclina. Foram encontrados cinco (13,2%) isolados multirresistentes. A fiscalização dos produtos de frango deve ser mais rigorosa, quanto a possível presença de *Salmonella*. O aparecimento de cepas de *Salmonella* resistentes a agentes antimicrobianos é indicativo da necessidade de maior controle no uso desses fármacos.

**Palavras-chave.** *Salmonella* Enteritidis, sensibilidade a antimicrobianos.

### ABSTRACT

*Salmonella* Enteritidis is the main cause of salmonellosis. The use of antimicrobials to prevent and to treat this infection, as well their use like growth promoters, has induced the emergency of resistant strains. The aim of this work was to search the presence of *Salmonella* in poultry products and to investigate the isolates resistance to antimicrobial agents. One hundred and twenty samples of poultry products were analyzed, according to the Food and Drug Administration. *Salmonella* was isolated from seven (15.83%) samples and four serotypes were identified, Enteritidis, Newport, Derby and Agona. Enteritidis was the most prevalent serotype (71.4%). Thirty-six (94.7%), 34 (89.5%), 32 (84.2%) and 32 (84.2%) isolates were susceptible to chloramphenicol, norfloxacin, ciprofloxacin and ampicillin, respectively. Thirty-three (86.8%) isolates were resistant to nalidixic acid. All isolates (100%) were susceptible to ceftriaxone. Twenty-five isolates (65.8%) were resistant to tetracycline. Five isolates (13.2%) multiresistant were found. The inspection of poultry products must be more rigorous, regarding to the possible presence of *Salmonella*. The occurrence of *Salmonella* strains resistant to antimicrobial agents is indicative of more control necessity in use of these drugs.

**Key words.** *Salmonella* Enteritidis, antimicrobial susceptibility.

## INTRODUÇÃO

Bactérias do gênero *Salmonella* estão entre as principais causas de enfermidades veiculadas por alimentos<sup>1</sup>. A transmissão desta bactéria a humanos ocorre pela ingestão de carnes mal cozidas, leite, ovos e outros alimentos, como vegetais que são ingeridos crus após sofrerem contaminação cruzada. Produtos e alimentos de origem animal são os principais responsáveis pela distribuição mundial de salmonelose<sup>2</sup>. Dentre as fontes de contaminação de *Salmonella*, as carnes são predominantes, tendo a de frango servido como veículo em numerosos casos de infecções humanas<sup>3,4</sup>.

Geralmente, a salmonelose é uma infecção autolimitante e não exige tratamento. No entanto, infecções invasivas, incluindo septicemia e meningite, ocorrem em 5 a 10% dos casos confirmados, principalmente entre crianças, idosos e pacientes com o sistema imune comprometido<sup>5</sup>. O uso de antimicrobianos na prevenção e no tratamento dessas infecções, assim como sua utilização como promotores de crescimento, tem provocado o aparecimento de cepas resistentes<sup>6,7</sup>. Typhimurium e Newport são sorotipos de *Salmonella* que têm apresentado cepas multirresistentes<sup>8,9</sup>.

O trabalho teve como objetivo investigar a presença de *Salmonella* em produtos de frango e verificar a resistência dos isolados frente a agentes antimicrobianos.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Amostras

Foram analisadas 120 amostras de produtos de frango (sobrecoxa, coxa e sobrecoxa, coxinha da asa, carne moída, salsichão e fígado), conforme Tabela 1, adquiridas em supermercados da cidade de Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil, e encaminhadas ao laboratório, sob refrigeração, onde foram analisadas até duas horas após o recebimento.

### Isolamento e identificação

A pesquisa de *Salmonella* foi realizada de acordo com a metodologia preconizada pela Food and Drug Administration<sup>10</sup>. Nas amostras de sobrecoxa e coxinha da asa, o conteúdo total da embalagem foi lavado em saco plástico estéril com 300 mL de caldo lactosado (CL, Merck, Darmstadt, Germany), deixado em repouso por 30 min a temperatura ambiente e incubado por 24 h a 37°C. Nas demais amostras, foi utilizado pré-enriquecimento com 25g da amostra em caldo lactosado por 24 h a 37°C. Foram analisadas três a cinco colônias de cada amostra. Os isolados foram enviados ao Departamento de Bacteriologia do Laboratório de Enterobactérias da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz, Manguinhos, Rio de Janeiro) para identificação dos sorotipos.

### Teste de sensibilidade a antimicrobianos

O teste de sensibilidade a antimicrobianos foi realizado pelo Método de Difusão em Disco, usando ágar Mueller-Hinton (Acumedia, USA) e incubação a 37°C por 18-24 h, de acordo com o NCCLS<sup>11</sup>. Os antimicrobianos utilizados foram ampicilina (10mcg), cloranfenicol (30mcg), norfloxacin (10mcg), tetraciclina (30mcg), ácido nalidíxico (30mcg), ceftriaxona (30mcg) e ciprofloxacina (5mcg) (Sensidisc, DME, São Paulo). Foram realizados antibiogramas nos isolados obtidos das amostras analisadas neste experimento e em 26 isolados de *Salmonella*, obtidos de sete amostras de carne moída de frango, previamente analisadas<sup>12</sup>.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da pesquisa de *Salmonella* nos produtos de frango estão demonstrados na Tabela 1. *Salmonella* foi isolada de 7 (5,83%) amostras e foram identificados quatro sorotipos, Enteritidis, Newport, Derby e Agona. Enteritidis foi o sorotipo de maior prevalência (71,4%) dentre os produtos de frango analisados, o que também tem sido observado por outros autores, que têm relatado prevalência de *Salmonella* mais elevada do que a encontrada no presente estudo. Baú et al.<sup>13</sup> analisaram 124 amostras de produtos de frango obtidas em supermercados e açougues de Pelotas, Rio Grande do Sul, e isolaram *Salmonella* de 10,48% das amostras, sendo o sorotipo Enteritidis predominante (77%) entre os isolados. Matheus et al.<sup>14</sup> analisaram 102 amostras de carcaças de frango resfriadas, comercializadas no município de Bauru, São Paulo e isolaram *Salmonella* de 6 amostras (5,9%), sendo o sorotipo Enteritidis (66,7%) o mais isolado. Mayrhofer et al.<sup>15</sup> identificaram *Salmonella* em 16,4% de 281 amostras de carne de frango analisadas na Áustria. Antunes et al.<sup>16</sup> isolaram *Salmonella* de 36 (60%) amostras de produtos de frango de um total de 60 coletadas na cidade de Porto, Portugal. Dez sorotipos foram identificados, sendo Enteritidis o predominante, isolado de 16 amostras.

**Tabela 1.** Resultados da pesquisa de *Salmonella* em 120 amostras de produtos de frango.

Produtos de frango	Amostras positivas/amostras analisadas	Sorotipos
Sobrecoxa	0/20	
Coxinha da asa	0/20	
Coxa e sobrecoxa	2/12	Enteritidis(1) Newport(1) Enteritidis(3)
Carne moída	3/21	
Salsichão	2/27	Enteritidis, Agona(2) Derby(1)
Fígado	0/20	
<b>Total</b>	<b>7/120</b>	<b>8</b>

A presença de dois sorotipos em uma mesma amostra foi observada no presente trabalho. *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Agona foram identificadas em uma amostra de salsichão de frango. A presença de mais de um sorotipo de *Salmonella* em uma mesma amostra também foi observada por Mayrhofer et al.<sup>15</sup>, que identificaram *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Heidelberg em uma amostra de carne de frango. Este fato salienta a importância de serem enviados aos laboratórios de referência mais de um isolado para sorotipagem, uma vez que a presença de mais de um sorotipo em uma mesma amostra pode fornecer informações importantes quanto à epidemiologia da salmonelose.

Suscetibilidade à ampicilina, à ciprofloxacina, à norfloxacina, à tetraciclina, à ceftriaxona, ao cloranfenicol e ao ácido nalidíxico foi investigada em todos os isolados. Os resultados dos antibiogramas encontram-se demonstrados na Figura 1. Foram analisados 34 isolados, sendo oito identificados neste experimento. Trinta e dois (94,1%), 30 (88,2%), 28 (82,4%) e 28 (82,4%) isolados foram sensíveis aos antimicrobianos cloranfenicol, norfloxacina, ciprofloxacina e ampicilina, respectivamente. Esses resultados foram similares aos encontrados por outros pesquisadores<sup>13,17,18</sup>. Delicato et al.<sup>19</sup>, investigando o perfil de resistência de 21 cepas de *Salmonella* isoladas de infecções humanas, verificaram que 50% dos isolados de *Salmonella* Enteritidis apresentaram resistência a antimicrobianos, sendo o maior percentual de resistência observado em relação à ampicilina (85,7%).

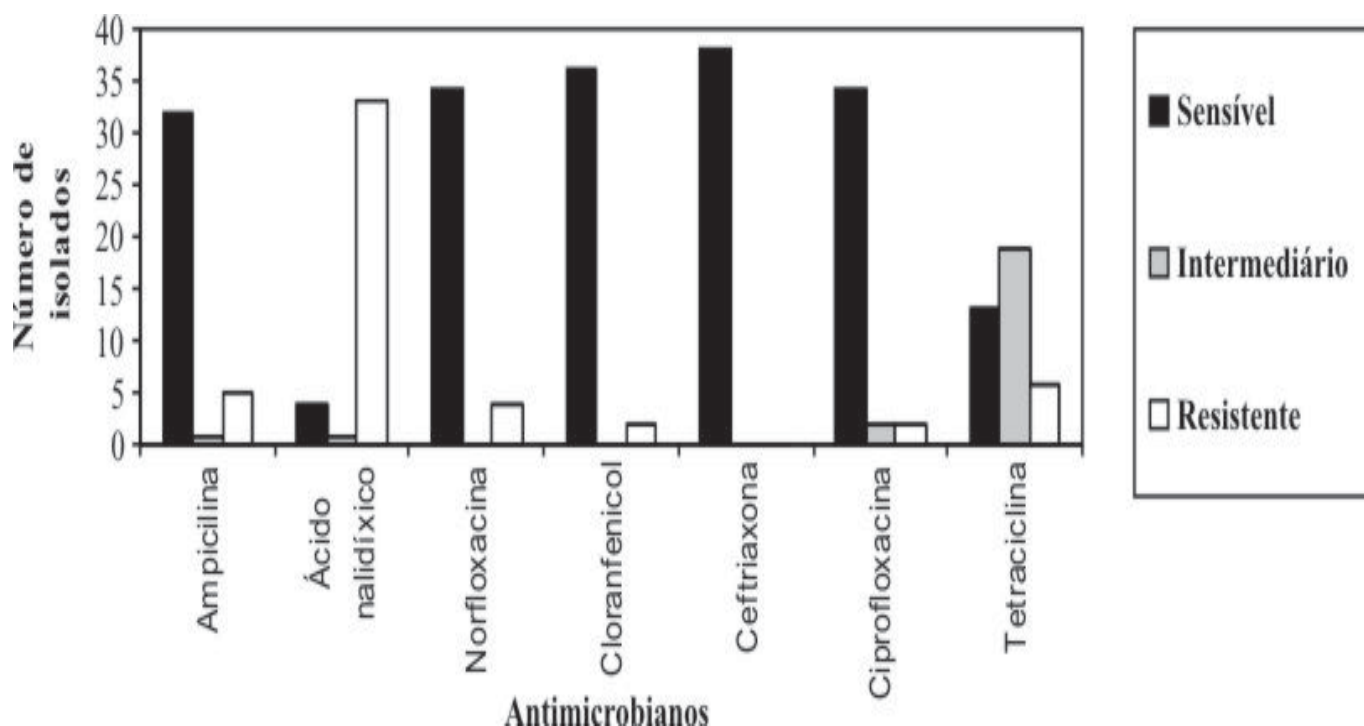
Trinta e um (91,2%) isolados foram resistentes ao ácido nalidíxico. Resistência a esse antimicrobiano tem sido observada

por outros autores<sup>15,16,20</sup>. No entanto, Carraminãna et al.<sup>17</sup>, Fernandes et al.<sup>18</sup> e Oliveira et al.<sup>21</sup> verificaram mais de 90% de sensibilidade de *Salmonella* ao ácido nalidíxico.

Todos os isolados (100%) foram sensíveis à ceftriaxona. Esses resultados são similares aos observados por Baú et al.<sup>13</sup>, Delicato et al.<sup>19</sup> e Stephen et al.<sup>22</sup>. Pickering<sup>23</sup> analisou a sensibilidade de 1.419 isolados de *Salmonella* e 2% foram resistentes a ceftriaxona. Cefalosporinas de terceira geração, como a ceftriaxona, são comumente empregadas no tratamento de salmoneloses invasivas em crianças devido às suas propriedades farmacodinâmicas e à baixa prevalência de resistência encontrada frente a esses antimicrobianos<sup>9</sup>.

A tetraciclina tem sido um dos antimicrobianos mais utilizados em animais de produção<sup>16,21</sup>, porém, em medicina humana, é considerada uma droga de segunda escolha<sup>15</sup>. Vinte e cinco isolados (65,8%) foram resistentes à tetraciclina, sendo que 19 apresentaram apenas resistência parcial. Fernandes et al.<sup>18</sup>, Oliveira et al.<sup>21</sup> e Pickering<sup>23</sup> identificaram 23%, 20% e 15,4%, respectivamente, de *Salmonella* resistentes à tetraciclina.

Neste trabalho, um isolado foi considerado multirresistente quando apresentou resistência a três ou mais antimicrobianos. Foram encontrados cinco (13,2%) isolados multirresistentes, sendo que um (2,6%) foi resistente a cinco antimicrobianos, ampicilina, norfloxacina, tetraciclina, ácido nalidíxico e ciprofloxacina, e dois (5,3%) foram resistentes a seis dos antimicrobianos testados, ampicilina, cloranfenicol, norfloxacina, tetraciclina, ácido nalidíxico e ciprofloxacina.



**Figura 1.** Perfil de suscetibilidade de isolados de *Salmonella* frente a antimicrobianos.

## CONCLUSÕES

A fiscalização dos produtos de frango oferecidos ao consumo humano deve ser mais rigorosa, quanto a possível presença de *Salmonella*. A ocorrência de *Salmonella* multirresistentes a antimicrobianos em produtos de frango potencializa o perigo representado pela presença desse patógeno em alimentos. O aparecimento de cepas de *Salmonella* resistentes a agentes antimicrobianos é indicativo da necessidade de maior controle no uso desses fármacos.

## REFERÊNCIAS

1. D'Aoust J, Maurer J, Bailey JS. *Salmonella* species. In: Doyle MP, Beuchat LR, Montville TJ, editores. Food microbiology: fundamental and frontiers. 2th ed. Washington: ASM; 2001. p.141-77.
2. Jay JM. Microbiologia moderna de los alimentos. 3<sup>rd</sup> ed. Zaragoza: Editorial Acribia; 1992.
3. Peresi JTM, Lima IAZC, Tavechio AT, Fernandes SA, Gelli DS. *Salmonella*: determinação de sorotipos e resistência a agentes microbianos de cepas isoladas de carcaças de frango comercializadas na região de São José do Rio Preto-SP. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 1999; 58(1): 41-6.
4. Sumner J, Raven G, Givney R. Have changes to meat and poultry food safety regulation in Australia affected the prevalence of *Salmonella* or of salmonellosis? *Int J Food Microbiol*. 2004; 92 (2): 199-205.
5. Chiappini E, Galli L, Pecile P, Vierucci A, Martino M. Results of a 5-year prospective surveillance study of antibiotic resistance among *Salmonella* enterica isolates and ceftriaxone therapy among children hospitalized for acute diarrhea. *Clin Ther*. 2002; 24 (10): 1585-94.
6. Threlfall EJ, Ward LR, Frost JA, Willshaw GA. The emergence and spread of antibiotic resistance in food-borne bacteria. *Int J Food Microbiol*. 2000; 62: 1-5.
7. White DG, Zhao S, Simjee S, Wagner DD, Mcdermott PF. Antimicrobial resistance of food-borne pathogens. *Microb Infect*. 2002; 4: 405-12.
8. Angulo FJ, Baker NL, Olsen SJ, Anderson A, Barret TJ. Antimicrobial use in agriculture: controlling the transfer of antimicrobial resistance to humans. *Sem Pediatr Infect Dis*. 2004; 15 (2): 78-85.
9. Yan SS, Pendrak ML, Abela-Ridder B, Punderson VMD, Fedorko DP, Foley SL. An overview of *Salmonella* typing public health perspectives. *Clin Appl Immunol Rev*. 2003; 4: 189-204.
10. Food and Drug Administration. *Salmonella*. Bacteriological analytical manual online, Chapter 5, 2006. Disponível em: <<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-5.html>>. Acesso em: 12 jun. 2006.
11. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility test for bacteria isolated from animals, Approved Standard, 2<sup>nd</sup> ed. M31-A2. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne (PA), USA, 2002.
12. Conceição RCS. Detecção de *Salmonella* em produtos de frango usando a separação imunomagnética [Dissertação de Mestrado]. Pelotas, Rio Grande do Sul: Universidade Federal de Pelotas, 2004.
13. Baú AC, Carvalhal JB, Aleixo JAG. Prevalência de *Salmonella* em produtos de frangos e ovos de galinha comercializados em Pelotas, RS, Brasil. *Ciênc Rural*. 2001; 31 (2): 303-7.
14. Matheus DP, Rudge AC, Gomes SMM. Ocorrência de *Salmonella* spp em carne de frango comercializada no município de Bauru, SP, Brasil. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2003; 62 (2): 111-5.
15. Mayrhofer S, Paulsen P, Smulders FJM, Hilbert F. Antimicrobial resistance profile of five major food-borne pathogens isolated from beef, pork and poultry. *Int J Food Microbiol*. 2004; 97: 23-9.
16. Antunes P, Réu C, Sousa JC, Peixe L, Pestana N. Incidence of *Salmonella* from poultry products and their susceptibility to antimicrobial agents. *Int J Food Microbiol*. 2003; 82: 97-103.
17. Carramiñana JJ, Rota C, Agustín I, Herrera A. High prevalence of multiple resistance to antibiotics in *Salmonella* serovars isolated from a poultry slaughterhouse in Spain. *Vet Microbiol* 2004; 104: 133-39.
18. Fernandes SA, Ghilardi ACR, Tavechio AT, Machado AMO, Pignatari ACC. Phenotypic and molecular characterization of *Salmonella* Enteritidis strains isolated in São Paulo, Brazil. *Rev Inst Med trop S Paulo*. 2003; 45 (2): 59-63.
19. Delicato EL, Mickcha JMG, Fernandes SA, Pelayo JS. Resistance profile to antimicrobials of *Salmonella* spp. isolated from human infections. *Braz Arch Biol Technol*. 2004; 47 (2): 193-7.
20. Calixto AER, Serafini AB, Kipnis A, André MCDP. Prevalência de *Salmonella* e ocorrência de cepas resistentes a antimicrobianos, em insumos de rações para aves produzidos por um matadouro-frigorífico com fiscalização permanente, em Goiânia, GO. *Hig Alim*. 2002; 16 (101): 56-62.
21. Oliveira SD, Flores FS, Santos LR, Brandelli A. Antimicrobial resistance in *Salmonella* Enteritidis strains isolated from broiler carcasses, food, human and poultry-related samples. *Int J Food Microbiol*. 2005; 97(3): 297-305.
22. Stephen JM, Toleman MA, Walsh TR, Jones RN, SENTRY Program Participants Group. *Salmonella* bloodstream infections: report from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2001). *Int J Antimicrob Agents*. 2003; 22: 395-405.
23. Pickering LK. Antimicrobial Resistance Among Enteric Pathogens. *Sem Pediatr Infect Dis*. 2004; 15 (2): 71-7.