

PERFIL DE SENSIBILIDADE DE *Salmonella* spp. EM ISOLADOS DE FRANGO

MARQUES, Juliana de Lima¹; VOLCÃO, Lisiane Martins¹; RIBEIRO, Gladis Aver²

¹Universidade Federal de Pelotas, Bacharelado em Ciências Biológicas; ²Universidade Federal de Pelotas, Departamento de Microbiologia e Parasitologia. ju_marques@hotmail.com

1 INTRODUÇÃO

Na transição entre os séculos XX e XXI, a economia sofreu diversas transformações, causando um aumento no ritmo do cotidiano das pessoas e inclusão de novos valores aos hábitos alimentares. Por consequência, houve um aumento significativo na contaminação dos alimentos, ultrapassando fronteiras transnacionais na ocorrência de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs) (ABRAHÃO, 2005).

As DTAs podem ser conceituadas como doença infecciosa ou de origem tóxica provocada pela ingestão de água ou alimentos contaminados por bactérias, vírus, parasitas, toxinas, príons, agrotóxicos, produtos químicos ou metais pesados, sendo a maior parte de origem microbiana (WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO, 2004).

Frequentemente ocorrem casos de DTAs em todos os países, porém, na maioria das vezes não são divulgados, fazendo com que a real dimensão do problema não seja conhecida (WHO, 2009). É arriscado estimar a incidência das doenças de natureza alimentar, no entanto, no ano de 2005 foi descrito cerca de 1,8 milhões de casos de pessoas que morreram em virtude de doenças diarreicas no mundo (WHO, 2007).

As bactérias do gênero *Salmonella* permanecem sendo uma das principais causas de toxinfecções alimentares em todo o mundo. Apresentam ampla distribuição na natureza, tendo como principal reservatório o trato intestinal do homem e dos animais. Os surtos de salmonelose em humanos têm comumente envolvido alimentos de origem animal, principalmente os provenientes de aves, que contenham ovos (ALTEKRUSE et al., 1997; ESTUPIÑAN et al., 1998).

De acordo com informações da Divisão de Vigilância Sanitária da Secretaria de Saúde e Meio Ambiente (DVSSMA) (1997), entre 1987 a 1997, bactérias do gênero *Salmonella* foram responsáveis por cerca de 30% das enfermidades de origem alimentar no Rio Grande do Sul, tendo os principais veículos de infecções os alimentos preparados e os produtos de confeitaria. No entanto, não foram identificados os sorovares geradores dessas enfermidades.

A antibioticoterapia é normalmente a principal alternativa no tratamento de diversas enfermidades tanto na medicina veterinária como humana. Atualmente, diversas drogas com diferentes princípios ativos podem ser encontrados no mercado, tornando-se significativa a avaliação acerca da eficácia de tais medicamentos frente aos microrganismos causadores destas enfermidades (LANGNEGGER; FIGUEIREDO; RESENDE, 1986; MACKIE et al, 1988).

Com base no exposto, o objetivo do presente estudo é verificar a ocorrência de salmonelas em frangos consumidos em Pelotas/RS e avaliar a sensibilidade das cepas isoladas a agentes antimicrobianos.

2 METODOLOGIA

Foram realizadas coletas de amostras de frango, de fevereiro a maio de 2012. As amostras desses alimentos foram obtidas de dois estabelecimentos (I – supermercado, II – açougue) comerciais na cidade de Pelotas, RS, e conduzidas em sua própria embalagem, dentro de uma caixa isotérmica até o Laboratório de Bacteriologia, do departamento de Microbiologia e Parasitologia do Instituto de Biologia, onde foram realizadas as análises microbiológicas. Os estabelecimentos foram sorteados aleatoriamente. Foram feitas cinco repetições dos testes por estabelecimento, totalizando um número de 12 amostras.

Para isolamento e identificação de *Salmonella* spp., foram homogeneizadas 25g de cada amostra em 225mL de Caldo Lactosado (CL), e incubado a 36°C por 24h para recuperação das células injuriadas. Após esse período, as amostras foram inoculadas em tubos de ensaio contendo os meios de enriquecimento seletivo: Rapaport (RR) e Tetracionato (TT), e novamente foram incubados a 36°C por 24h. Em seguida, foram semeadas alíquotas de cada um desses tubos, por meio da técnica de esgotamento, contendo os seguintes meios seletivos: Ágar *Hektoen-Enteric* (HE) e Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD), e incubadas a 36°C por 24h.

Segundo Koneman et al. (2001), as colônias suspeitas de *Salmonella* spp., devem ser submetidas às seguintes provas bioquímicas: Ágar Lisina Ferro (LIA), Ágar Tríplice de Ferro (TSI) e Caldo de Uréia. No caso de resultados positivos das provas bioquímicas, as colônias foram identificadas sorologicamente utilizando o soro anti-salmonela polivalente somático.

Após o procedimento de isolamento e identificação das espécies bacterianas propostas, as amostras foram repicadas em Ágar BHI inclinado e incubadas a 36°C por 24h para a obtenção de massa bacteriana e submetidas a testes de sensibilidade conforme método de Kirby-Bauer (BAUER et al., 1966). A técnica foi realizada em placas contendo Agar *Mueller-Hinton*, e os inóculos foram padronizados de acordo com a escala 0,5 de Mac Farland, correspondendo a $1,5 \times 10^8$ UFC.mL⁻¹ a partir dos cultivos bacterianos recentes. Após, foram semeados na superfície do meio de cultivo com o auxílio de *swabs* estéreis. Então, discos de papel-filtro contendo agentes antimicrobianos foram dispostos na superfície do meio de cultura. Os antimicrobianos testados foram ampicilina 10 mg, clorafenicol 30 mg, gentamicina 10 mg, nitrofurantoína 300 mg, norfloxacin 10 mg, sulfazotrim 25 mg, tetraciclina 30 mg, ácido nalidíxico 30 mg. As placas com os discos foram incubadas a 36°C por 18 a 24 horas.

A atividade antibacteriana foi avaliada pela formação de um halo inibitório provocado pelos agentes antimicrobianos sobre as cepas testadas. A leitura foi realizada medindo-se em milímetros o halo de inibição de cada disco e foi feita uma consulta em uma tabela apropriada para determinar se a bactéria em análise foi sensível, intermediária ou resistente ao antimicrobiano testado.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 12 amostras de frango analisadas, cinco (42%) apresentaram contaminação bacteriana por *Salmonella* spp., sendo que dessas, quatro (80%) foram provenientes do estabelecimento II, e uma (20%) do estabelecimento I. Esses resultados não tiveram a mesma prevalência (12,24%) do que os encontrados por

Nascimento et al. (1997), o qual analisou amostras de frangos oriundos de avícolas da região sul. Essa diferença pode ser associada a variações na metodologia de isolamento de microrganismos adotadas nos diferentes laboratórios. Porém, infere-se que o local de coleta das amostras pode ser considerado um fator bastante significativo de influência nas taxas de prevalências obtidas (FARKAS, 1997).

Os resultados (tab.1) quanto ao teste de sensibilidade mostraram que as cepas foram sensíveis aos antimicrobianos testados, com exceção da ampicilina, nitrofurantoína e tetraciclina. O percentual de resistência elevado obtido para a tetraciclina pode ser justificado pelo fato desse agente ter sido usado como aditivo alimentar em rações animais até 1998 (SILVA; DUARTE, 2002). Os dados referentes ao clorafenicol corroboram com os encontrados por Ribeiro et al. (2006), que obtiveram 100% de susceptibilidade nas cepas de *Salmonella* spp. testadas.

Tabela 1 - Perfil de Sensibilidade antimicrobiana de cinco cepas de *Salmonella* spp.

Agente antimicrobiano	% de isolados sensíveis
Ácido Nalidíxico	100
Clorafenicol	100
Gentamicina	100
Norfloxacina	100
Sulfazotrim	100
Nitrofurantoína	60
Tetraciclina	60
Ampicilina	40

4 CONCLUSÃO

Com base nos resultados encontrados no presente estudo, pode-se constatar que há certo percentual de amostras de frangos comercializadas em Pelotas/RS contaminadas por *Salmonella* spp., o que pode indicar a ocorrência de contaminação tanto no processamento dos frangos, ou até mesmo na manipulação imprópria dos alimentos. Quanto ao perfil de sensibilidade a antimicrobianos, as cepas testadas mostraram variações em seu perfil de sensibilidade demonstrando a importância da realização do teste de antibiograma para corretas indicações clínicas, quando necessárias.

5 REFERÊNCIAS

ABRAHÃO, P. **Ocorrência de *Listeria monocytogenes* e de outros microrganismos em gelados comestíveis fabricados e comercializados na região metropolitana de Curitiba, Paraná.** 2005. 123f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia, Parasitologia e Patologia)–Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

ALTEKRUSE, S.F.; COHEN, M.L.; SWERDLOW, D.L. Emerging foodborne diseases. **Emerging Infectious Diseases**, v.3, n.3, p.285-293, 1997.

BAUER, A.W.; KIRBY, M.M.; SHERRIS, J.C. et al. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. **American Journal of Clinical Pathology**, v.45, n.4, p.493-496, 1966.

DIVISÃO DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA-SSMA/RS. Programa de controle de enfermidades transmitidas por alimentos, relatório anual. Porto Alegre, RS: **Secretaria de Saúde e Meio Ambiente**, 1997, 24p.

ESTUPIÑAN, J.; CUÉLLAR, M.N.; D'AGOSTINHO, M., et al. Enfermidades transmitidas por alimentos (ETA) em Latinoamérica y el Caribe. In: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE MICROBIOLOGIA E HIGIENE DE ALIMENTOS, Águas de Lindóia, SP. Anais... São Paulo: **Sociedade Brasileira de Microbiologia**, v.1, n.5, p.69, 1998.

FARKAS, J. Food microbiology: fundamentals and frontiers. **American Society for Microbiology**, v.94, n.28, p.497-519, 1997

KONEMAN, E. W. et al. **Diagnóstico microbiológico**—texto e atlas colorido. 5.ed. Rio de Janeiro: Editora Médica e Científica, 2001. 1465p.

LANGNEGGER, J.; FIGUEIREDO, M. P.; RESENDE, E. F. Eficácia terapêutica de Cefacetrile frente aos microrganismos do gênero *Staphylococcus* e *Streptococcus* isolados de mastites subclínicas. **A Hora Veterinária**, v. 30, p. 24-27, 1986.

MACKIE, D. P. et al. Antibiotic sensitivity of bovine staphylococcal and coliform mastitis isolated over four years. **Veterinary Record**, v. 123, n.30, p. 515-517, 1988.

NASCIMENTO, V.P., OLIVEIRA, S.D., RIBEIRO, A.R., et al. Identificação de sorovares de *Salmonella* em cortes e carcaças de frangos. In: XIX Congresso Brasileiro de Microbiologia. Anais. Florianópolis: **Sociedade Brasileira de Microbiologia**, v.1, p.287, 1997

RIBEIRO, A.R.; SILVA, V.D.; DUARTE, A.M.; VASCONCELOS, M.M.; ANDRADE, L.A.; FALCÃO, S.A. Resistência antimicrobiana em *Salmonella* isoladas de carcaças resfriadas de frango. In: Congresso Norte-Nordeste de Multirresistência Bacteriana. Anais. Recife: Universidade Federal de Pernambuco, **Sociedade Brasileira de Microbiologia**, v.2, 2006.

SILVA, E.N.; DUARTE, A. *Salmonella enteritidis* em aves: retrospectiva no Brasil. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.2, n.2, p.85-100, 2002.

WHO - World Health Organization. Disponível em:
<http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0005/74417/E82161.pdf> Acesso em: 19 jun. 2012.