

**SALMONELLA: DETERMINAÇÃO DE SOROTIPOS E RESISTÊNCIA A AGENTES
ANTIMICROBIANOS DE CEPAS ISOLADAS DE CARÇAÇAS DE FRANGO
COMERCIALIZADAS NA REGIÃO DE SÃO JOSÉ DO RIO PRETO - SP**

Jacqueline Tanury Macruz PERESI*
Ivete Aparecida Zago Castanheira de ALMEIDA*
Sonia Isaura de LIMA*
Sueli Aparecida FERNANDES**
Ana Terezinha TAVECHIO**
Dilma Scala GELLI**

RIALA 6/849

PERESI, J.T.M.; ALMEIDA, I.A.Z.C.; LIMA, S.I.; FERNANDES, S.A.; TAVECHIO, A.T. e GELLI, D.S. - *SALMONELLA*: Determinação de sorotipos e resistência a agentes antimicrobianos de cepas isoladas de carcaças de frango comercializadas na região de São José do Rio Preto - SP. *Rev.Inst.Adolfo Lutz*, 58(1): 41-46 1999.

RESUMO: De abril de 1995 a dezembro de 1996, foram estudadas 160 amostras de carcaças de frango, comercializadas na região de São José do Rio Preto - SP. Foram determinados os sorotipos e perfis de sensibilidade aos agentes antimicrobianos de todas as cepas de *Salmonella* isoladas. Das carcaças analisadas, 54,38% estavam contaminadas por *Salmonella*. Foram identificados 18 diferentes sorotipos, dentre os quais *Salmonella* Enteritidis correspondeu a 59,77%. Verificou-se que 13,79% das cepas de *Salmonella* apresentaram resistência aos agentes antimicrobianos testados. Os resultados obtidos demonstraram o alto índice de contaminação por *Salmonella* em carne de frango. Considerando o consumo de alimentos de origem animal, principalmente de aves, por um grande número de pessoas, este fato possivelmente tem propiciado a ocorrência de numerosos surtos por *S. Enteritidis* na nossa região, nos últimos anos.

DESCRITORES: Carcaça de frango, *Salmonella*, sorotipos, resistência antimicrobiana.

INTRODUÇÃO

No gênero *Salmonella* estão classificados 2435 diferentes sorotipos de acordo com a caracterização bioquímica e sorológica¹⁷. Muitos destes sorotipos são responsáveis por graves casos de infecções humanas esporádicas e também por surtos. A ocorrência de cepas, consideradas selvagens, resistentes aos antimicrobianos é fato preocupante, quando observadas as características de patogenicidade da bactéria em questão e a possibilidade de infecções extra-intestinais, decorrentes de gas-

troenterites em grupos mais sensíveis da população, como são as crianças, idosos, imunossuprimidos e imunocomprometidos²¹.

As enfermidades transmitidas por alimentos (ETAs) representam um importante problema de saúde pública, não somente nos países desenvolvidos mas também naqueles em desenvolvimento²³.

Os alimentos de origem animal e seus derivados, contaminados por *Salmonella*, têm sido a maior fonte de infecções em humanos¹⁴. Dentre estes alimentos, a carne de frango e os ovos, consumidos por todas as classes

* Instituto Adolfo Lutz- Lab. I de São José do Rio Preto — Rua Alberto Sufredini, 2325 - Tel. (017) 224.2602 — CEP 15.060-020 -São José do Rio Preto - SP.

** Instituto Adolfo Lutz- Lab. Central - São Paulo.

sociais, tem sido os veiculadores de numerosos casos de infecções humanas, por *Salmonella*. O sorotipo predominante nestes alimentos é *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorotipo Enteritidis (*S. Enteritidis*) que nos últimos anos tem sido a causa de numerosos surtos relatados em várias partes do mundo e também no Brasil, incluindo o Estado de São Paulo^{1, 8,9,12,16,23}. O estudo relatando 23 surtos por *S. Enteritidis* na região de São José do Rio Preto (no prelo), corrobora a importância e significado desta contaminação em termos de saúde pública.

As aves podem ser contaminadas por *Salmonella* ainda nas granjas por diversas fontes, como introdução de lotes de aves infectadas, ambiente e ração contaminada⁴. A contaminação das rações pode ser decorrente de matéria prima¹¹, e pode ser agravada pelo uso não correto de antibióticos, que favorecem o surgimento de cepas resistentes²². Durante seu armazenamento, a presença de roedores e outros animais domésticos e silvestres, é outra fonte possível de contaminação de rações²¹. Evidências e estudos têm indicado que a utilização de produtos químicos, como o ácido fórmico associado ao ácido propiônico, assim como o processo térmico da peletização, contribuem para diminuir os níveis de contaminação das rações¹⁸. Estas medidas, associadas a programas de desinfecção ambiental de granjas, são necessárias, tendo em vista a busca de solução de problemas relacionados com a criação de aves e a postura de ovos em grande escala¹⁰.

Entretanto, a transmissão vertical, observada em alguns sorotipos como *S. Gallinarum*, *S. Pullorum* e *S. Enteritidis*, representa também uma forma de manutenção da infecção através das gerações de significativa importância³. Estas aves, durante o processo de abate podem favorecer a disseminação da bactéria no ambiente do abatedouro e também entre as carcaças que são destinadas ao consumo humano⁵, podendo estas ainda serem contaminadas durante o armazenamento ou na exposição nos pontos de comercialização.

Considerando as implicações de saúde pública relacionadas com as salmonelas, o presente trabalho tem por objetivo relatar os sorotipos isolados a partir de carcaças de frango, assim como verificar o perfil de sensibilidade dos mesmos aos agentes antimicrobianos disponíveis para o tratamento das infecções animais e humanas por essa enterobactéria.

MATERIAL E MÉTODOS

Durante o período de abril de 1995 a dezembro de 1996, foram encaminhadas 160 amostras de carcaças de frango ao Instituto Adolfo Lutz, Laboratório I de São José do Rio Preto.

As amostras eram procedentes de coletas realizadas pelo Grupo Técnico da Vigilância Sanitária, DIR XXII de S.J.R.Preto. Segundo informações do referido órgão, as amostras foram coletadas em nível de mercado local (supermercados, casas de carne, etc.).

As amostras foram recebidas em embalagem original, acondicionadas em saco plástico fechado, resfriadas ou congeladas. Na embalagem original, constava a marca do produto, porém sem especificar necessariamente o abatedouro ou granja. As 160 amostras referiam-se a 8 marcas diferentes, codificadas de A a H pelo laboratório.

Para a determinação de Presença/Ausência de *Salmonella* na carcaça, foi procedida análise conforme segue: cada carcaça foi retirada de sua embalagem original e acondicionada em saco plástico, onde, foi vertido 225 ml de Água Peptonada a 1%, Tamponada (APT). Procedeu-se o enxágüe da carcaça em APT, por agitação do conjunto e manualmente. O APT foi então vertido em frasco estéril para a etapa de pré-enriquecimento não seletivo (incubação por 18-24h a 35°C). Após esse período, alíquotas de APT foram semeadas em caldos de enriquecimento seletivo (Rappaport-Vassiliadis modificado, Selenito-Cistina e Tetracionato segundo Kauffmann), todos incubados a 42°C por 24-48h. Na sequência, foi realizado o isolamento em meios seletivos diferenciais (agares Mc.Conkey (MC), Brilliant Green (BG) e Xylose-Lysine-Tergitol 4 (XLT4)) por estrias na superfície e incubados por 24h a 35°C, identificação presumtiva de colônias isoladas a partir dos agares em meio IAL¹⁵ e caracterização das mesmas por sorologia polivalente O e H de *Salmonella*. Estas etapas foram conduzidas por metodologia recomendada por FLOWERS e cols⁶, modificada no que se refere à substituição do caldo de pré-enriquecimento, do meio de identificação presumtiva e da temperatura de incubação dos três meios de enriquecimento seletivo e ainda, inclusão dos meios BG, XLT4 e Rappaport-Vassiliadis modificado.

As cepas isoladas foram encaminhadas à Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz-São Paulo, para confirmação do gênero e para caracterização do sorotipo, conforme metodologia descrita por Popoff e Le Minor¹⁷.

Os testes de sensibilidade foram realizados a partir de cada cepa isolada e identificada. O método usado foi de difusão em ágar, conforme descrito por Bauer e cols². Foram utilizados discos da marca Cecon impregnados com os antibióticos abaixo identificados, nas concentrações assinaladas: cefalotina-CF (30 µg); carbenicilina-CR (100 µg); sulfonamidas-SF (300 µg); cefotaxima-CTX (30 µg); ciprofloxacina-CIP (5 µg); tetraciclina-TT (30 µg); cloranfenicol-CO (30 µg); gentamicina-GN (10 µg); ceftazidima-CAZ (30 µg); cefuroxima-CRX (30 µg); ampicilina-AP (10 µg); fosfomicina-FO (50 µg); kanamicina-KN (30 µg); sulfazotrim-SFT (25 µg) e cefoxitina-CFO (30 µg).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de positividade para presença de *Salmonella*, assim como a distribuição de sorotipos, estão descritos na Tabela 1. Observa-se que o número de amostras relacionadas com cada marca não é proporcio-

nal, porém está relacionado com a presença, frequência e distribuição das mesmas no mercado local, segundo informações da Vigilância Sanitária.

As carcaças contaminadas tem implicações epidemiológicas, especialmente se forem consideradas todas as possibilidades de contaminações cruzadas. Essas contaminações podem ocorrer tanto em refrigeradores domiciliares ou comerciais, quando alimentos já prontos para o consumo entram em contato direto ou indireto com produtos crus, como gotejamentos, ou sua introdução através de utensílios e/ou equipamentos que contenham resíduos da carne crua^{11,21}.

A porcentagem de amostras positivas é de 54,38%, significativa e sugestiva de frequência da distribuição da

Salmonella em carcaças de aves, mostrando-se mais elevada quando comparada com os resultados encontrados por Gonzalez e cols⁷ (40,74%) e Nascimento e cols¹³ (12,24%) nas análises de carcaças de frango comercializadas na região do Grande Rio - RJ e oriundas do sul do país, respectivamente.

Foram isoladas 87 cepas de *Salmonella* e caracterizados 18 sorotipos identificados na Tabela 1. A elevada frequência de isolamento de *S. Enteritidis* (59,77%) nas carcaças analisadas pode estar associada ao intercâmbio comercial de matrizes de aves entre países⁸. Além disso, a sua capacidade de transmissão vertical às gerações subsequentes³, assim como sua presença no meio ambiente, permitiu a sua disseminação no nosso meio.

TABELA 1

Positividade e distribuição de sorotipos isolados segundo as marcas /No. Amostras analisadas

SOROTIPOS	MARCAS/Nº de Amostras - Nº Cepas isoladas								TOTAL/160	sorotipos % isolamento
	A/53	B/30	C/38	D/13	E/8	F/8	G/5	H/5		
<i>S. Enteritidis</i>	27	09	08	03	03	02	-	-	52	59,77
<i>S. Albany</i>	05	-	-	-	-	-	-	-	05	5,75
<i>S. Agona</i>	03	01	-	-	-	-	-	-	04	4,60
<i>S. enterica</i> subsp										
<i>enterica</i> cepa rugosa	01	-	-	-	-	01	02	-	04	4,60
<i>S. Mbandaka</i>	02	-	-	-	-	01	-	-	03	3,45
<i>S. Infantis</i>	-	02	-	-	-	-	-	01	03	3,45
<i>S. Gloucester</i>	-	03	-	-	-	-	-	-	03	3,45
<i>S. Schwarzengrund</i>	01	-	-	-	01	-	-	-	02	2,29
<i>S. enterica</i> subsp										
<i>enterica</i> , 1,13,19:___:___	-	-	-	-	-	-	02	-	02	2,29
<i>S. enterica</i> subsp										
<i>enterica</i> , 9,12:___:___	-	-	-	-	-	01	-	-	01	1,15
<i>S. enterica</i> subsp										
<i>enterica</i> , 4,12:gst:___	-	01	-	-	-	-	-	-	01	1,15
<i>S. Senftenberg</i>	01	-	-	-	-	-	-	-	01	1,15
<i>S. Ealing</i>	-	-	-	01	-	-	-	-	01	1,15
<i>S. Emek</i>	-	-	-	-	-	01	-	-	01	1,15
<i>S. Arechavaleta</i>	-	01	-	-	-	-	-	-	01	1,15
<i>S. Lexington</i>	01	-	-	-	-	-	-	-	01	1,15
<i>S. Livingstone</i>	-	01	-	-	-	-	-	-	01	1,15
<i>S. Hadar</i>	01	-	-	-	-	-	-	-	01	1,15
TOTAL	42	18	08	04	04	06	04	01	87*	100%

• 54,38% de amostras positivas para *Salmonella*

A variação de sorotipos encontrados sugere a contaminação das aves através de mais de uma fonte^{5,11}, podendo ser uma das principais, o uso da ração preparada industrialmente como alimento exclusivo na avicultura em nível industrial¹¹, possibilitando a disseminação nas aves, de sorotipos de *Salmonella* não adaptados ou comumente adaptados a elas.

Em relação aos testes de sensibilidade, a Tabela 2 apresenta a resistência aos agentes antimicrobianos verificada em 12 cepas (13,79%) pertencentes a 6 sorotipos. Não constam da Tabela os sorotipos e cepas que não apresentaram resistência, ou seja, as 75 (86,21%) cepas sensíveis. Nota-se que os sorotipos que apresentam resistência são os que podem ser considerados de maior importância à saúde pública^{19,20}.

Pelos resultados dos testes de sensibilidade aos agentes antimicrobianos, observou-se que os sorotipos apresentaram índice relativamente baixo de resistência, próximo ao apresentado, por Vital Brazil e cols²².

Em relação à *S. Enteritidis*, a aquisição de resistência a mais de um antibiótico demonstrado por algumas cepas, também relatado por Tavechio e cols²⁰, tem implicações epidemiológicas consideráveis e é notável quando se observa que sua prevalência é recente em nosso meio.

CONCLUSÃO

Apesar de ser observado nesse trabalho uma grande porcentagem de cepas sensíveis a todos os agentes antimicrobianos testados, a detecção de cepas multirresistentes de *S. Enteritidis* é preocupante, uma vez que, além desse sorotipo ser o mais frequentemente isolado nesse estudo, ele também tornou-se o sorotipo predominante

em surtos de enfermidades transmitidas por alimento nos últimos anos no Estado de São Paulo.

A presença de cepas resistentes a agentes antimicrobianos dificulta a escolha terapêutica, representando um fator agravante no controle da infecção humana e animal.

Baseado na frequência da distribuição de *Salmonella* em carcaças de aves, nos numerosos sorotipos isolados e na presença de cepas resistentes a agentes antimicrobianos, conclui-se que é importante a realização de um controle higiênico-sanitário efetivo em todas as etapas da cadeia alimentar, desde a produção animal até o consumidor.

Deve-se identificar e controlar todos os pontos críticos durante as etapas de comercialização, conservação e preparo dos alimentos. Para tanto, é necessário implantação de programas de orientação de manipuladores de alimentos, particularmente no manuseio de produtos crus de origem animal como medida preventiva de riscos à saúde do consumidor.

TABELA 2

Resistência aos agentes antimicrobianos dos sorotipos de *Salmonella*

Marcas de resistência	Sorotipos - nº de cepas					
	<i>S. Agona</i>	<i>S. Enteritidis</i>	<i>S. Hadar</i>	<i>S. Mbandaka</i>	<i>S. Gloucester</i>	<i>S. enterica</i> subp <i>enterica</i> 4, 12:g,s,t:—
SF	1	0	0	1	0	1
FO	3	0	0	0	0	0
TT	0	0	1	0	0	0
CRX	0	0	0	0	3	0
SF,GN	0	1	0	0	0	0
CF,CFO,CRX,TT	0	1	0	0	0	0
TOTAL	4	2	1	1	3	1

SF(sulfonamidas);
FO(fosfomicina);
TT(tetraciclina);

CRX(cefuroxima);
GN(gentamicina);
CF(cefalotina);

CFO(cefexetina).

PERESI, J.T.M.; ALMEIDA, I.A.Z.C.; LIMA, S.I.; FERNANDES, S.A.; TAVECHIO, A.T. e GELLI, D.S.- *SALMONELLA*: Serotyping and antimicrobial susceptibility patterns of strains isolated from chicken carcasse samples commercialized in the São José do Rio Preto area - SP. *Rev.Inst.Adolfo Lutz*, 58(1): 41-46,1999

ABSTRACT: From April 1995 to December 1996, 160 samples of chicken carcasses commercialized in the São José do Rio Preto area were studied. *Salmonella* serotyping and antimicrobial susceptibility patterns of all strains isolated were carried out. Eighty-seven (54,38%) out of 166 carcasses were *Salmonella*-positive with 18 serovars identified. The most frequent serovar was *Salmonella* Enteritidis (59,77%). Concerning to the antimicrobial susceptibility tests, 13,79% of the *Salmonella* isolates were resistant to the antimicrobial agents used. These findings show the high rate of chicken meat contaminated by *Salmonella*. Probably, this fact has facilitated the occurrence of many *S. Enteritidis* outbreaks in our area, taking into account the consumption of animal origin food, mainly from poultry, by a large number of people.

Keywords: chicken carcasses, *Salmonella*, serovars, antimicrobial susceptibility

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. ARAUJO, E.; PACHECO, M.A.S.R.; BONI, R.F.; FONSECA, Y.S.K.; GELLI, D.S.; FERNANDES, S.A.; TAVECHIO, A.T. Surtos alimentares por *Salmonella enteritidis* associados ao consumo de alimentos à base de ovos, em Sorocaba, SP. *Higiene Alimentar*, 9(40):24-26,1995.
02. BAUER, A. W.; KIRBY, W.M.M.; SHERRIS, J. C.; TURK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.*, 45: 493-6, 1966.
03. BERCHIERI, A.; BARROW, P. A.; MURPHY, C. K. - Vertical Transmission of *Salmonella gallinarum*, *S. pullorum* and *S. enteritidis* in commercial brown egg layers. *Salmonella and Salmonellosis*: 293-294, 1997.
04. BERCHIERI, JR., A.; BARROW, P. A. - Redution in Incidence of Experimental Fowl Typhoid by Incorporation of a Commercial Formic Acid Preparation (Bio - Add™) into Poultry Feed. *Poultry Science*, 75: 339-341, 1996.
05. BERCHIERI JR. A.; PAULILLO, A.C.; FERNANDES, S.A.; PESSOA, G.V.A.; ROSSI JR., OD.; IRINO, K.; ÁVILA, F.A.; CALZADA, C.T. - *Salmonella* em um abatedouro avícola. *Ars. Veterinaria*,3(1):81-87,1987.
06. FLOWERS, S.; D'AOUST, J.; ANDREWS, W. H.; BAILEY, J. S. - *Salmonella*. In: *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. Vanderzant, C. and Splittstoesser, D.F., ed. 3rd, c. 25, p. 388-404, 1992.
07. GONZALEZ, A.G.M.; NUNES, L.S.; AQUINO, M.H.C.; SANTOS, A.C.; PACHECO, A.P.G.; TIBANA, A. Frequência de *Salmonella* sp e *Campylobacter* sp em carcaças de frango comercializados na região do Grande Rio. In: Congresso Brasileiro de Microbiologia, 19, Rio de Janeiro, 1997,p.271,AL-036.
08. IRINO, K.; FERNANDES, S.A.; TAVECHIO, A.T.; NEVES, B.C. & DIAS, A.M.G. - Progression of *Salmonella* Enteritidis phage type 4 strains in São Paulo state, Brazil. *Rev. Inst. Med. trop. S.Paulo*. 38 (3) 193-06, 1996.
09. KAKU,M.; PERESI, J.T.M.; TAVECHIO, A.T.; FERNANDES, S.A.; BATISTA,A.B.; CASTANHEIRA, I.A.Z.; GARCIA, G.M.P.; IRINO, K.; GELLI, D.S. - Surto alimentar por *Salmonella* Enteritidis no Noroeste do Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Saúde Pública*, 29(2):127-31,1995.
10. MARTINEZ, F.; BERCHIERI, JR., A. - The effect of disinfectants on *Salmonella enteritidis* (SE) and *Salmonella typhimurium* (STM). *Salmonella and Salmonellosis*: 493-497, 1997.
11. MIRANDA, J.B.N.; PESSOA, G.V.A.; IRINO, K. & CALZADA, C.T. - Ocorrência da *Salmonella* em farinhas utilizadas como matéria-prima na composição de rações animais. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 38(2): 157-160. 1978.
12. MOTA, C.C.S.; VIEIRA, H.R.A.; PUZYNA, I.P.; KALACHE,J.; KONOLSAISEN,J.F.; CAMARGO, N.J. - Toxi-infecção alimentar por *Salmonella enteritidis*. Relato de um surto ocorrido em Curitiba-PR, Brasil/julho de 1981. *Higiene Alimentar*, 2:123-31,1983.
13. NASCIMENTO, V.P.; OLIVEIRA,S.D.; RIBEIRO, A.R.; SANTOS, L.R.;CARDOSO, M.O.; PON-

- TES, A.P.; SILVA, A.B.; ROCHA, S.L.S. Identificação de sorovares de *Salmonella* em cortes e carcaças de frango. In: Congresso Brasileiro de Microbiologia, 19, Rio de Janeiro, 1997, P.287, AI-098.
14. OMS . Lutte contre les salmonelloses: le role de l'hygiene applique aux animaux et aux produits. Séries des rapports techniques n° 774. OMS. Geneva, 1989.
15. PESSOA, G.V.A & SILVA, E.A.M. -Milieu pour la identification presomptive rapide des enterobactéries, des aeromonas et des vibrions. *Ann. Microbiol.* **125 A**:341-7,1974.
16. PISSANI, B.; ROCHA,M.M.M.; SIMÕES,M.; PRANDI, M.A.G.; BONWOART,P.A.G.; IRINO,K.; NEVES, B.C.; BEVILACQUA, A.R.P.A. - *Salmonella* Enteritidis: Elucidação de Surtos ocorridos na região de Campinas, de setembro de 1994 a junho de 1995. In :Congresso Brasileiro de Microbiologia, 18°, Santos,1995. *Anais*.p.80.
17. POPOFF,M.Y. & LE MINOR, L. - Formules antigéniques des sérovars de *Salmonella* . Paris. Centre Collaborateur OMS de Reference et de Recherches pour les *Salmonella* , 1997.p. 11.
18. SILVA, E.N. - *Salmonella enteritidis* em Aves e Saúde Pública . *Higiene Alimentar*, **9** (37) : 9-13, 1995.
19. TAUNAY,A.E.; FERNANDES, S.A. ; TAVECHIO, A.T.; NEVES, B.C.; DIAS, A.M.G.& IRINO, K.-The role of Public Health Laboratory in the problem of Salmonellosis in São Paulo, Brazil. *Rev Inst.Med.trop,S.Paulo*, **38** (2): 119 -127, 1996.
20. TAVECHIO, A.T.; FERNANDES, S.A. ; NEVES, B.C.; DIAS, A.M.G.& IRINO, K. Changing patterns of *Salmonella* serovars: Increase of *Salmonella* Enteritidis in São Paulo, Brazil. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo*, **38** (5) : 315-322, setembro/outubro, 1996.
21. VARNAM, A.H. & EVANS, M.G. - Foodborne Pathogens- An Illustrated Text. Wolfe Publishing Ltd. C.4, 1991.
22. VITAL BRAZIL, J.M.; COSTA, R.G.; REIS, E.M.F. & SOLARI, C.A. -Sorovares de *Salmonella* em matéria -prima e perfil de resistência aos antimicrobianos. In: Congresso Brasileiro de Microbiologia, 19, Rio de Janeiro, 1997. P. 282, AL-080
23. WORLD HEALTH ORGANIZATION - *Guidelines on prevention and control of Salmonellosis*.Geneva, A.H.Linton, 1983.

Recebido para publicação em 27/04/98