



SOROTIPOS DE SALMONELLA EM SURTOS ALIMENTARES NO SUL DO BRASIL

Juliana Silveira da Silva¹
Andréa Karoline Mascitti²
Rafael Oliveira Reis³
Vagner Ricardo Lunge⁴
Nilo Ikuta⁵

Resumo

A salmonelose é uma das infecções bacterianas transmitidas por alimentos mais relatadas no Brasil. Os isolados de *Salmonella* são classificados em mais de 2.600 sorotipos, adaptados a diferentes hospedeiros, com diversos mecanismos de virulência. A infecção humana é, geralmente, devido ao consumo de alimentos contaminados por *Salmonella*. *Enteritidis* e *Typhimurium* são os sorotipos mais frequentemente relatados em surtos alimentares por *Salmonella* em todo o mundo. O presente estudo teve como objetivo investigar a distribuição dos sorotipos e os padrões de resistência aos antimicrobianos em culturas de *Salmonella* isoladas de alimentos. *Salmonella* foi isolada a partir de produtos de carne, maionese caseira, *fast foods* e outros. Os testes sorológicos e moleculares detectaram onze sorotipos diferentes, com predomínio de *Enteritidis* e *Typhimurium*. *Enteritidis* foi o sorotipo mais difundido, sendo detectado em todas as fontes alimentares, enquanto *Typhimurium* foi o sorotipo mais frequente em carne suína e derivados. A resistência antimicrobiana foi analisada em 57 isolados, sendo mais da metade (53,1%) resistentes a uma ou duas categorias; e 7% para três ou mais classes antimicrobianas, sendo considerada a resistência a múltiplas drogas (MDR). Ácido nalidíxico (NAL) foi o antibiótico com maior resistência. Esses resultados demonstram a importância do monitoramento da contaminação dos alimentos por *Salmonella*, principalmente pelos sorotipos *Enteritidis* e *Typhimurium*. Novos estudos são necessários para entender os determinantes de virulência desses isolados.

Palavras chave: *Enteritidis*; *Typhimurium*; salmonelose; antimicrobianos

INTRODUÇÃO

O gênero *Salmonella* pertence à família *Enterobacteriaceae*. Essas bactérias caracterizam-se pelo formato de bastão e por serem anaeróbicas facultativas e gram-negativas. Essas bactérias estão amplamente distribuídas na natureza e infectam diversos animais, incluindo o homem. A classificação taxonômica divide o gênero nas espécies *S. bongori* e *S. enterica*, sendo esta última subdividida em seis subespécies: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica*. Além disso, essas bactérias são também classificadas em

1 Aluno do curso de graduação Ciências Biológicas – Bolsista PROBIC/FAPERGS – ju.silveira@outlook.com

2 Aluno do PPG/BioSaúde – Bolsista PROSUP/CAPES – andreakaroline88@hotmail.com

3 Doutor pelo PPG/BioSaúde – rafaelurcamp@gmail.com

4 Professor do curso de graduação do curso de Medicina Veterinária e PPGBioSaúde– lunge@ulbra.br

5 Professor do curso de graduação do curso de Medicina Veterinária e PPGBioSaúde– nilo.ikuta@gmail.com

sorotipos e existem mais de 2600 que já foram identificados em diversos locais do mundo (ISSENHUTH-JEANJEAN et al., 2014)

As salmoneloses são a principal causa de infecções entéricas humanas em todo mundo (ÁLVAREZ-FERNANDÉZ et al., 2012). A *Salmonella* é frequentemente transmitida pelo consumo de alimentos de origem animal, principalmente ovos, carnes e derivados destes. Diversos sorotipos têm sido detectados, sendo Enteritidis e Typhimurium os mais frequentes em todo mundo. A gravidade da infecção pela bactéria em humanos varia de acordo com o sorotipo, da sua adaptação, da dose infectante e do estado de saúde do hospedeiro. Além disso, essas bactérias têm demonstrado crescente resistência aos antimicrobianos pelo uso intensivo desses medicamentos no tratamento do homem e dos próprios animais (MØLBAK, 2005), portanto muitas pesquisas estão sendo realizadas para avaliar o seu perfil de resistência antimicrobiana.

O presente estudo teve como objetivo investigar a distribuição dos sorotipos e os padrões de resistência aos antimicrobianos de isolados de *Salmonella* obtidos de alimentos no Sul do Brasil em um período de seis anos.

METODOLOGIA

Amostras de *Salmonella*

Foram analisados os registros de 124 isolados de *Salmonella* obtidos de alimentos da coleção de culturas do setor de Microbiologia do Laboratório Central do Estado do Rio Grande do Sul (LACEN/RS). Esses isolados eram originados de diferentes tipos de alimentos responsáveis por surtos detectados na população ou casos esporádicos analisados pelo sistema de Vigilância Sanitária do estado do Rio Grande do Sul durante os anos de 2010 a 2015.

Isolamento, identificação do sorotipo e análise de resistência aos antibióticos

As amostras foram enriquecidas e plaqueadas em meio sólido específico para *Salmonella-Shigella* (Probac, São Paulo, Brasil). As colônias suspeitas de *Salmonella* foram confirmadas pelo teste de aglutinação com antígenos comerciais polivalentes O e H (Probac, São Paulo, Brazil). A caracterização antigênica completa e a identificação do sorotipo foi realizada pelo Laboratório de Referência Nacional de Cólera e outras Enteroinfecções Bacterianas, Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) de acordo com o esquema Kauffmann–White–Le Minor (KWL). Os isolados foram avaliados quanto à resistência aos principais antibióticos de acordo com os métodos do Instituto de Normas Clínicas e Laboratoriais (CLSI).

Detecção molecular dos sorotipos Typhimurium e Enteritidis

A detecção específica do DNA dos sorotipos Typhimurium e Enteritidis de *Salmonella* foi realizada pela PCR em tempo real utilizando reagentes comerciais NewGene SET (Simbios Biotecnologia, Cachoeirinha, Brasil). A amplificação foi realizada em termociclador StepOne Plus (Applied Biosystems, Carlsbad, EUA) e os resultados foram avaliados pela presença/ausência de curvas de amplificação e determinação dos respectivos valores de ciclo de leitura das fluorescências (Ct - *Cycle threshold*).

Análise Estatística

Os dados foram analisados utilizando o *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS, versão 18.0, Chicago, IL). Foi empregado o teste de qui-quadrado de Pearson, com um nível de significância de 5%, para avaliar possíveis diferenças nas frequências das variáveis qualitativas. Um valor de $P < 0,05$ foi considerado como estatisticamente significativo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados demonstraram que 117 (94,3%) isolados de *Salmonella* foram obtidos de 45 surtos alimentares na comunidade e 7 (5,7%) da busca ativa do serviço de vigilância sanitária. Os isolados foram originados de diferentes alimentos (Tabela 1). Em um total de 115 isolados, 11 diferentes sorotipos foram observados. Também houveram 9 isolados sem determinação de sorotipo identificados como *Salmonella* spp (Tabela 2). Os isolados de Enteritidis e Typhimurium foram confirmadas pela análise molecular específica.

Tabela 1: *Salmonella* em fontes alimentares

Fonte de alimento	n	%
Salada de maionese	29	23.4
Carne suína e derivados	14	11.3
Hambúrgueres, sanduíches e cachorro-quente	13	10.5
Carne bovina e derivados	10	8.1
Carne de frango e derivados	10	8.1
Presunto, salame e salsicha	9	7.3
Doces (bolos e tortas)	9	7.3
Grãos (arroz, feijão, milho e ervilha)	8	6.5
Salada de vegetais	8	6.5
Ovos e derivados	5	4.0
Queijos	4	3.2
Outros	5	4.0
Total	124	100

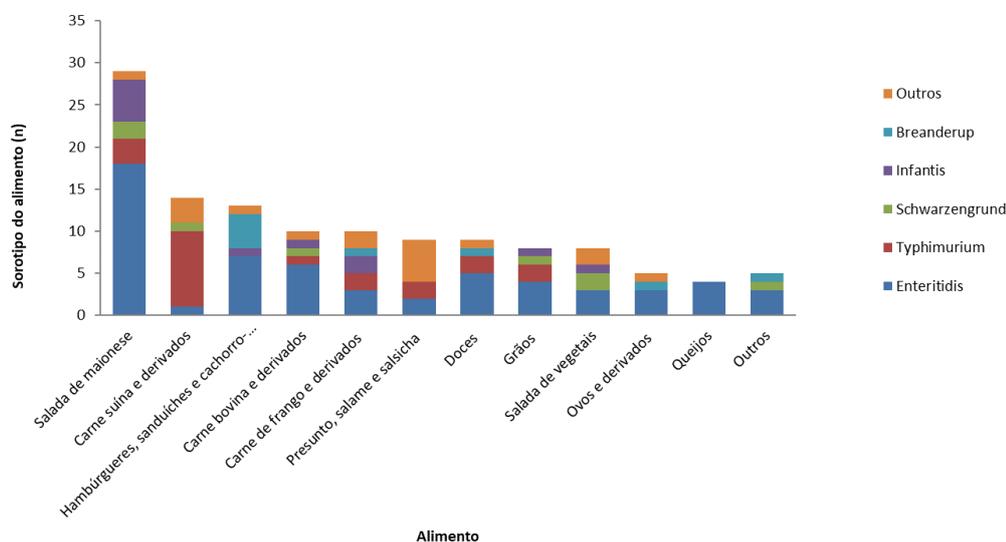
Enteritidis foi o sorotipo mais encontrado, sendo mais frequente na salada de maionese (62,1%), carne bovina e derivados (60%) e *fast foods* (53,8%) ($p < 0,05$). O sorotipo Typhimurium foi mais frequente em carne suína e derivados (64,3%) ($p < 0,05$).

Tabela 2: Sorotipos de *Salmonella* detectados em amostras de alimentos entre 2010 a 2015

Sorotipos de <i>Salmonella</i>	n	%
S. Enteritidis	59	47.6
S. Typhimurium	21	16.9
S. Infantis	11	8.9
S. Schwarzengrund	8	6.5
S. Braenderup	8	6.5
S. Panama	3	2.4
S. London	1	0.8
S. Give	1	0.8
S. Derby	1	0.8
S. Ohio	1	0.8
S. Gafsa	1	0.8
S. spp	9	7.2
Total	124	100

Estudos anteriores demonstraram que certos produtos alimentícios atuam como reservatórios para alguns sorotipos (EMOND-RHEAULT et al., 2017). Enteritidis tem sido o sorotipo mais isolado em amostras de surtos e de alimentos (Figura 1). Resultados similares foram obtidos por Capalunga et al. (2014).

Figura 1: Distribuição e prevalência dos sorotipos mais comuns por grupo de alimento.



Fontes: Autores

Identificou-se que 21 (36,8%) amostras eram sensíveis a todos os antibióticos testados. Ao comparar as classes de antibióticos, 32 (53,1%) isolados eram resistentes a uma ou duas classes de antibióticos e quatro (7%) apresentavam resistência a três ou mais classes de antimicrobianos, sendo considerados MDR. O ácido nalidíxico (NAL) foi o antibiótico com

maior resistência (43,9%). O conhecimento obtido a partir do padrão de resistência de isolados clínicos permite a introdução de padrões adequados de tratamento de água e meio ambiente para cada região, o que também pode contribuir para a redução de casos de salmonelose (FADLALLAH et al., 2017).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os surtos de origem alimentar ainda são um problema de saúde pública, logo é importante continuar monitorando a contaminação microbiana dos alimentos, principalmente pelos sorotipos Enteritidis e Typhimurium. Além disso, novos estudos são necessários para entender os determinantes de virulência desses isolados.

REFERÊNCIAS

ÁLVAREZ-FERNÁNDEZ, Elena et al. Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* serotypes isolated from poultry in Spain: comparison between 1993 and 2006. **International Journal of Food Microbiology**, v. 153, n. 3, p. 281-287, feb.2012.

CAPALONGA, Roberta et al. *Salmonella* serotypes, resistance patterns, and food vehicles of salmonellosis in southern Brazil between 2007 and 2012. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v. 8, n. 07, p. 811-817, july.2014.

EMOND-RHEAULT, Jean-Guillaume et al. A Syst-OMICS approach to ensuring food safety and reducing the economic burden of salmonellosis. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 996, june.2017.

FADLALLAH, Sukayna M. et al. Molecular epidemiology and antimicrobial resistance of *Salmonella* species from clinical specimens and food Items in Lebanon. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v. 11, n. 01, p. 19-27, jan. 2017.

ISSENHUTH-JEANJEAN, Sylvie et al. Supplement 2008–2010 (no. 48) to the White–Kauffmann–Le Minor scheme. **Research in microbiology**, v. 165, n. 7, p. 526-530, july.2014.

MØLBAK, K. Human health consequences of antimicrobial drug-resistant *Salmonella* and other foodborne pathogens. **Clinical infectious diseases**, v. 41, n. 11, p. 1613-1620, dec.2005.