

Isolamento e perfil de suscetibilidade a antimicrobianos de isolados de *Salmonella* obtidos durante o abate de ruminantes**Isolation and antimicrobial susceptibility pattern of *Salmonella* isolates recovered from ruminant slaughter**

DOI:10.34117/bjdv6n8-611

Recebimento dos originais: 08/07/2020

Aceitação para publicação:26/08/2020

Tanise Pacheco Fortes

Doutora pelo Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Universidade Federal de Pelotas
Instituição: Universidade Federal de Pelotas – UFPel
Endereço: Avenida Eliseu Maciel, Campus Universitário, S/N - Capão do Leão – RS, Brasil
E-mail: tanisefortes@gmail.com

Gilmar Batista Machado

Doutor pelo Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Universidade Federal de Pelotas
Instituição: Universidade Federal de Pelotas – UFPel
Endereço: Avenida Eliseu Maciel, Campus Universitário, S/N - Capão do Leão – RS, Brasil
E-mail: gilmar.machado84@hotmail.com

Caroline Dewes

Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Universidade Federal de Pelotas
Instituição: Universidade Federal de Pelotas – UFPel
Endereço: Avenida Eliseu Maciel, Campus Universitário, S/N - Capão do Leão – RS, Brasil
E-mail: caroldewesvet@hotmail.com

Sandra Vieira de Moura

Doutora pelo Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Universidade Federal de Pelotas
Instituição: Universidade Federal de Pelotas – UFPel
Endereço: Avenida Eliseu Maciel, Campus Universitário, S/N - Capão do Leão – RS, Brasil
E-mail: sanvimoura@gmail.com

Iuri Vladimir Pioly Marmitt

Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de Pelotas
Instituição: Universidade Federal de Pelotas – UFPel
Endereço: Avenida Eliseu Maciel, Campus Universitário, S/N - Capão do Leão – RS, Brasil
E-mail: iurihrs@hotmail.com

Gabriele Benatto Delgado

Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Universidade Federal de Pelotas
Instituição: Universidade Federal de Pelotas – UFPel
Endereço: Avenida Eliseu Maciel, Campus Universitário, S/N - Capão do Leão – RS, Brasil
E-mail: gabriele_delgado@hotmail.com

Flávia Aleixo Vasconcellos

Doutora pelo Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de Pelotas
Instituição: Universidade Federal de Pelotas – UFPel
Endereço: Avenida Eliseu Maciel, Campus Universitário, S/N - Capão do Leão – RS, Brasil
E-mail: aleixo.fv@gmail.com

Éverton Fagonde da Silva

Docente da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas
Instituição: Universidade Federal de Pelotas – UFPel
Endereço: Avenida Eliseu Maciel, Campus Universitário, S/N - Capão do Leão – RS, Brasil
E-mail: fagondee@gmail.com

RESUMO

O Brasil possui um dos maiores rebanhos de ruminantes do mundo e destaca-se como um grande exportador de carne. Entretanto, para que a exportação brasileira de carne e seus derivados a outros mercados seja consolidada é de fundamental importância que o produto tenha segurança alimentar. Entre os micro-organismos usados como indicadores de segurança alimentar, *Salmonella* se destaca por causar doenças em animais e humanos. Assim, este estudo foi realizado com o objetivo de isolar *Salmonella* em três diferentes pontos do abate de ruminantes e avaliar sua suscetibilidade a oito antimicrobianos usados comumente para seu controle. Cento e cinquenta amostras foram coletadas de três pontos diferentes do abate: couro do animal após a sangria (P1), carcaça após a evisceração (P2) e conteúdo cecal (P3). Os isolados foram testados quanto à suscetibilidade antimicrobiana *in vitro* usando trimetoprim, amoxicilina, ceftriaxona, ampicilina, tetraciclina, gentamicina, norfloxacina e estreptomicina. Como resultados, duas (1,33%) cepas foram isoladas de bovinos e classificadas como *Salmonella*. Os dois isolados foram sensíveis à ampicilina, gentamicina e norfloxacina. De acordo com os resultados, conclui-se que existe o risco da bactéria ser incorporada na linha de abate pelos ruminantes e gerar a contaminação das carcaças. Assim, os programas de autocontrole devem ser revisados.

Palavras-chave: *Salmonella*, ruminantes, antimicrobianos.

ABSTRACT

Brazil has one of the largest commercial cattle of the world and it is a great beef exporter. Meanwhile, for the consolidation of Brazilian exports of meat and products is necessary that the products have food security. Among the microorganisms used as indicators of food security, *Salmonella* has a special attention because causes severe diseases to animals and humans. Thus, this study was carried out to isolate *Salmonella* at three different points in the slaughter of ruminants and to assess their susceptibility to eight antimicrobials commonly used for their control. A hundred and fifty samples were collected from three different points of slaughter: the leather of the animal after bleeding (P1), the carcass after evisceration (P2) and cecum contents (P3). The isolates were tested for their antimicrobial susceptibility *in vitro* using trimetoprim, amoxicilin, ceftriaxon, ampicilin, tetraciclín, gentamicina, norfloxacin and streptomycin. The two isolate presented susceptibility to ampicilin, gentamicin and norfloxacin. According to the results, we conclude that there is the risk of incorporating the bacteria at the slaughter time by the ruminants and, this way, contaminating the carcasses. Thus, self-control programs should be revised.

Key-words: *Salmonella*, ruminants, antimicrobial

1 INTRODUÇÃO

O Brasil abateu mais de 8 milhões de bovinos no último trimestre de 2019 e destaca-se como um dos maiores produtores de carne mundiais (IBGE, 2020; ABIEC, 2020). Entretanto, para a consolidação da exportação brasileira de carne *in natura* e seus derivados a outros mercados, é fundamental que o produto tenha vida útil adequada e segurança microbiológica aceitável (ASSI et al., 2016).

Entre os micro-organismos importantes para a segurança alimentar, *Salmonella* tem se destacado como grande causadora de toxinfecções alimentares, sendo por isso utilizada como um indicador da segurança alimentar por diversos países (BESSA et al., 2004). *Salmonella* é um dos mais importantes patógenos transmitidos por alimentos e está associada com muitas doenças em humanos e animais (YE et al., 2011), sendo uma das bactérias formadoras de biofilme (COLLING et al., 2020).

As bactérias do gênero *Salmonella* são bacilos Gram-negativos que compõem o grupo mais complexo das enterobactérias, são anaeróbias facultativas e as formas móveis possuem flagelos peritríquios (KONEMAN et al., 2001; HUR et al., 2011). Assim como outras bactérias patogênicas presentes na superfície de carcaças de ruminantes, *Salmonella* entra na planta de abate a partir de animais vivos e de operários, não existindo procedimentos de inspeção especificamente direcionados para o seu controle (LIMA et al., 2004).

Depois de ser ingerida, *Salmonella* é capaz de sobreviver ao pH ácido do estômago e colonizar o epitélio intestinal (ABRAHAMS; HENSEL, 2006). Dependendo do sorotipo e do hospedeiro infectado, a bactéria é capaz de associar-se a macrófagos no interior das placas de Peyer, no íleo distal, de onde é transportada para tecidos como fígado e baço, onde se multiplica disseminando a infecção (YAN et al., 2003).

Em humanos, as salmoneloses são reconhecidas como causa comum de doenças transmitidas por alimentos (DTA) e representam um grave problema de saúde pública (SOUZA et al., 2010). A apresentação clínica mais comum é a gastroenterite com náusea, vômito e diarreia, com ou sem febre (YAN et al., 2003). Frequentemente, as infecções causadas por *Salmonella* requerem terapia com antimicrobianos para serem eliminadas (HUR et al., 2012). Nos Estados Unidos, fluoroquinolonas são comumente usadas para tratar infecções severas por *Salmonella* em humanos (RAVEENDRAN et al., 2008; CDC, 2010). Um problema que tem sido observado ao longo das décadas é o desenvolvimento de resistência de cepas de *Salmonella* aos antimicrobianos (HUR et al., 2012; MACHADO et al., 2020). Dessa maneira, a caracterização dos perfis de resistência a

antimicrobianos de linhagens de *Salmonella* tem assumido um papel importante para a saúde pública (OLIVEIRA, 2005).

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi isolar *Salmonella* em três diferentes pontos do abate de ruminantes e avaliar sua suscetibilidade a oito antimicrobianos usados comumente para seu controle.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 AMOSTRAS

Cento e cinquenta amostras foram coletadas de três pontos distintos (P1=couro do animal após a sangria, P2=carcaças após a evisceração, e P3=conteúdo cecal) do abate de bovinos (75) e búfalos (75) clinicamente normais. As amostras foram coletadas com o auxílio de zaragatoa estéril, identificadas e conservadas em refrigeração para serem transportadas até o laboratório, onde eram processadas em até 24 horas.

2.2 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

As amostras foram incubadas em água peptonada tamponada (APT) para recuperar células injuriadas até uma condição fisiológica estável. De cada amostra pré-enriquecida em APT foram retiradas alíquotas para inoculação em caldo Tetrionato (TT) e Rappaport-Vassiliadis (RVS), respectivamente. Os caldos TT e RVS foram incubados em banho-maria a 42°C por 24 horas. Alíquotas provenientes do enriquecimento seletivo foram semeadas em Agar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD) e Agar Verde Brilhante Vermelho de Fenol Lactose Sacarose (BPLS). Colônias que apresentaram características compatíveis com *Salmonella* spp. foram submetidas a provas bioquímicas e sorológica, com soro *Salmonella* Polivalente Somático (Probac).

2.3 TESTE DE SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS (TSA)

A sensibilidade *in vitro* dos isolados aos antimicrobianos foi determinada através da técnica de disco difusão. Os agentes antimicrobianos usados foram trimetoprim, amoxicilina, tetraciclina, estreptomicina, ceftriaxona, ampicilina, gentamicina e norfloxacin. As amostras foram classificadas em sensíveis e resistentes de acordo com critérios sugeridos pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*.

3 RESULTADOS

Das 150 amostras analisadas, verificou-se a presença de *Salmonella* spp. em 2 (1,33%), as quais eram provenientes do conteúdo cecal dos animais. Por outro lado, não foi possível isolar *salmonella* em nenhuma das 50 carcaças analisadas. A bactéria também não foi encontrada nas amostras provenientes do couro dos animais. Quanto à espécie animal, *Salmonella* foi isolada apenas de amostras provenientes de bovinos.

A suscetibilidade dos isolados para os antimicrobianos testados pode ser vista na Tabela 1. De acordo com os pontos de corte estabelecidos pelo CLSI, as amostras mostraram-se resistentes ao trimetoprim, amoxicilina, tetraciclina, estreptomicina e ceftriaxona, sendo sensíveis à ampicilina, gentamicina e norfloxacin.

Tabela 1. Resultado do teste de sensibilidade aos antimicrobianos

Antimicrobiano	Amostras	
	B15a	B19a
Amoxicilina	R	R
Ampicilina	S	S
Ceftriaxona	R	R
Estreptomicina	R	R
Gentamicina	S	S
Norfloxacin	S	S
Tetraciclina	R	R
Trimetoprim	R	R

R = resistente; S = sensível

4 DISCUSSÃO

A ausência de *Salmonella* nas 50 carcaças analisadas é um resultado semelhante ao encontrado por Dong et al. (2014), que encontrou a bactéria em 1,4% das amostras analisadas. A presença de salmonelas em carcaças de ruminantes costuma variar de acordo com uma série de fatores, incluindo as condições climáticas, o manejo dos animais e até as condições de abate e armazenamento do produto (COSTA, 2010).

A bactéria também não foi encontrada nas amostras provenientes do couro dos animais, contrastando com os resultados encontrados por Barkocy-Gallagher et al. (2003) e Rivera-Betancourt et al. (2004), que detectaram *Salmonella* numa frequência de 97,7% e 70,8%, respectivamente. A ausência de *Salmonella* no couro dos animais indica uma baixa contaminação entre os indivíduos (DONG et al, 2014). Barkocy-Gallagher et al. (2003) relacionaram a frequência de isolamento do micro-organismo a partir do couro com o período do ano, sendo que nos meses

mais frios a frequência de isolamento de *Salmonella* foi menor do que aquela encontrada nos meses mais quentes. A presença de *Salmonella* spp nos animais que chegam ao frigorífico é um fator de risco, mas não deve ser encarado como um índice de contaminação do produto final (BESSA et al., 2004; MACHADO et al., 2020).

O uso inadequado de agentes antimicrobianos não apenas para o tratamento de pacientes humanos e veterinários, mas também como substâncias promotoras de crescimento em animais parece ter promovido o surgimento de linhagens bacterianas resistentes a esses medicamentos (ARAQUE, 2009). Nesse estudo os isolados foram resistentes à estreptomicina e à tetraciclina, concordando com Perez-Montaña et al. (2012), que caracteriza a resistência a esses agentes como o perfil de resistência mais comum na indústria bovina. A sensibilidade dos isolados à ampicilina concorda com o estudo conduzido por Souza et al. (2010), onde apenas 0,5% das amostras mostraram-se resistentes a este antimicrobiano.

De acordo com Hur et al. (2010), nos Estados Unidos fluoroquinolonas, como a norfloxacin e cefalosporinas de terceira geração, como a ceftriaxona são comumente usadas para tratar infecções severas por *Salmonella* em humanos. Interessantemente, o aumento do uso das fluoroquinolonas, que são usadas contra um amplo espectro de patógenos bacterianos, refletiu em um aumento da resistência de *Salmonella* spp. a esses antibióticos (CHEN et al., 2004).

Neste estudo, os isolados mostraram-se resistentes à ceftriaxona. O aumento da resistência de cepas de *Salmonella* a antimicrobianos como as cefalosporinas de terceira geração tem se mostrado um problema mundial (DONG et al., 2014).

5 CONCLUSÕES

A identificação de animais assintomáticos pode levar a um melhor entendimento do ciclo de contaminação de *Salmonella* nos ruminantes. Além disso, os resultados obtidos neste estudo evidenciam um risco para a ocorrência da enfermidade em bovinos e humanos, devido a resistência dos isolados frente a maioria dos antimicrobianos comumente utilizados na cadeia de produção.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CAPES, CNPq e a FAPERGS pelas bolsas de estudo e pelos demais auxílios financeiros para a execução deste trabalho.

REFERÊNCIAS

- ABIEC. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNE. Exportações Brasileiras de Carne Bovina. Disponível em: <http://abiec.com.br/exportacoes/>. Acesso em: 20 agosto de 2020.
- ABRAHAMAS, G. L.; HENSEL, M. Manipulating cellular transport and immune responses: dynamic interactions between intracellular *Salmonella enterica* and its host cells. *Cell. Microbiol.*, n.8, p.728-737, 2006.
- ASSI, A.L.; MARTINS, W.S.; MARTINS, C.; BALIAN, S.C. Carne bovina: os fatores econômicos e comerciais podem afetar a segurança alimentar no Brasil? *Higiene Alimentar*, v.30, p.134-138, 2016.
- BARKOCY-GALLAGHER, G. A.; ARTHUR, T. M.; RIVERA-BETANCOURT, M.; NOU, X.; SHACKELFORD, S. D.; WHEELER, T. L.; KOOHMARAIE, M. Seasonal prevalence of shiga toxin-producing *Escherichia coli*, including O157:H7 and non-O157 serotypes, and *Salmonella* in commercial beef processing plants. *Journal of Food Protection*, v.66, n.11, p.1978-1986, 2003.
- BESSA, M. C.; COSTA, M.; CARDOSO, M. Prevalência de *Salmonella* sp em suínos abatidos em frigoríficos do Rio Grande do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.24, n.2, p.80-84, 2004.
- CDC. *Salmonella* surveillance: annual summary, 2006. Atlanta, Georgia: US. Department of Health and Human Services, CDC, 2010.
- CHEN, S.; ZHAO, S.; WHITE, D. G.; SCHROEDER, C. M.; LU, R.; YANG, H.; MCDERMOTT, P. F.; AYERS, S.; MENG, J. Characterization of multiple-antimicrobial-resistant *Salmonella* serovars isolated from retail meats. *Appl. Environ. Microbiol.* 2004, 70(1):1. DOI: 10.1128/AEM.70.1.1-7.2004
- COLLING, L.B.; SILVA, J.P.M.; DELGADO, G.B.; VASCONCELLOS, F.A.; FÉLIX, S.R.; DUVAL, E.H.; CONCEIÇÃO, R.C.; SILVA, É.F. Avaliação da formação de biofilme por cepas de *Salmonella* spp. Isoladas de linguiça frescal. *Brazilian Journal of Development*, v.6, n.8, p. 54428-54435, 2020.
- COSTA, C. A. R. Avaliação da exposição do consumidor à *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., e *Escherichia coli* produtora de toxina Shiga em produtos cárneos refrigerados comercializados no município de São Paulo. 2010. 127f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- DONG, P. ; ZHU, L.; MAO, Y.; LIANG, R.; NIU, L.; ZHANG, Y.; LI, K.; LUO, X. Prevalence and profile of *Salmonella* from samples along the production line in Chinese beef processing plants. *Food Control* 38 (2014) 54-60.
- HUR, J.; JAWALE, C.; LEE, J. H. Antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from food animals: a review. *Food Research International*, n.45, p.819-830, 2012.
- IBGE 2020. Censo Agropecuário. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Brasília, DF. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/1092#resultado>. Acesso em 20 de agosto de 2020.

KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDA, W. M.; SCHRECKENBERGER, P. C.; WINN, W. C. Diagnóstico Microbiológico – Texto e Atlas Colorido. 5 ed. São Paulo: MEDSI Editora Médica Científica, 2001. 1488p.

LIMA, E. S. C.; PINTO, P. S. A.; SANTOS, J. L.; VANETTI, M. C. D.; BAVILACQUA, P. D.; ALMEIDA, L. P.; PINTO, M. S.; DIAS, F. S. Isolamento de *Salmonella* sp e *Staphylococcus aureus* no processo de abate suíno como subsídio ao sistema de análise de perigos e pontos críticos de controle – APPCC. Pesq. Vet. Bras., n.24, v.4, p.185-190, 2004.

MACHADO, G.B.; FORTES, T.P.; DEWES, C.; SEIXAS NETO, A.C.P.; VASCONCELLOS, F.A.; TIMM, C.D.; LIMA, H.G., SILVA, É.F. Isolamento e perfil de suscetibilidade a antimicrobianos de isolados de *Salmonella* obtidos durante o abate de suínos. Brazilian Journal of Development, v.6, n.8, p.54405-54413, 2020.

OLIVEIRA, F. A. Caracterização por susceptibilidade a antimicrobianos, PCR-ribotipificação e RAPD de *Salmonella* Enteritidis envolvidas em surtos de doenças veiculadas por alimentos ocorridas no Rio Grande do Sul, nos anos de 2001 e 2002. 2005. 95f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto alegre.

PEREZ-MONTAÑO, J. A.; GONZALEZ-AGUILAR, D.; BARBA, J.; PACHECO-GALLARDO, C.; CAMPOS-BRAVO, C. A.; GARCIA, S. Frequency and antimicrobial resistance of *Salmonella* serotypes on beef carcasses at small abattoirs in Jalisco state, Mexico. Journal of Food Protection, 75(5), 867-873.

RAVEENDRAN, R.; WATTAL, C.; SHARMA, A.; OBEROI, J. K.; PRASAD, K. J.; DATTA, S. High level ciprofloxacin resistance in *Salmonella enterica* isolated from blood. Indian J. Med. Microbiol., n.26, p.50-53, 2008.

RIVERA-BETANCOURT, M.; SHACKELFORD, S. D.; ARTHUR, T. M.; WESTMORELAND, K. E.; BELLINGER, G.; ROSSMAN, M.; REAGAN, J. O.; KOOHMARAIE, M. Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella* in two geographically distant commercial beef processing plants in the United States. Journal of Food Protection, v.67, n.2, p.295-302, 2004.

SOUZA, R. B.; MAGNANI, M.; OLIVEIRA, T. C. R. M. Mecanismos de resistência às quinolonas em *Salmonella* spp. Semina: Ciências Agrárias. v.31, n.2, p. 413-428, 2010.

YAN, J. J.; KO, W. C.; CHIU, C. H.; TSAI, S. H.; WU, H. M.; JIN, Y. T.; WU, J. J. Emergence of ceftriaxone-resistant *Salmonella* isolates and rapid spread of plasmid-encoded CMY-2-like cephalosporinase, Taiwan. Emerg. Infect. Dis., n.9, p.323-328, 2003.

YE, Y.; WU, Q.; ZHANG, J.; LU, J.; LIN, L. Isolation of *Salmonella* from Meat Samples and Characterization by Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus-Polymerase Chain Reaction and Antibiotics Test. Foodborne Pathogens and Disease. v.8, n.8, p.935-937, 2011.