

PREVALÊNCIA DE *SALMONELLA* EM PRODUTOS DE FRANGOS E OVOS DE GALINHA COMERCIALIZADOS EM PELOTAS, RS, BRASIL

PREVALENCE OF *SALMONELLA* IN CHICKEN PRODUCTS AND HEN'S EGGS FROM PELOTAS, RS, BRAZIL

Ana Cristina Bauí¹ José Beiro Carvalhal² José Antonio Guimarães Aleixo³

RESUMO

A prevalência de *Salmonella* em produtos de frangos e ovos de galinhas, os sorovares mais freqüentes e sua sensibilidade a antimicrobianos, foram investigados em Pelotas, Brasil, no período de maio de 1997 a outubro de 1998. Um total de 124 amostras de produtos de frangos obtidas em supermercados e açougues e 94 amostras de 6 unidades de ovos de galinhas obtidas em supermercados e feiras-livres foram analisadas através do método convencional de cultivo. Entre as amostras de produtos de frangos analisadas, 13 (10,48%) continham salmonelas. Os 13 isolamentos de salmonelas realizados foram sorotipificados como *S. enteritidis* (10), *S. anatum* (1) e *S. enterica* subespécie *enterica* sorovar 3,10:e,h:- (2). Todas as cepas isoladas foram resistentes à penicilina G e sensíveis aos demais antimicrobianos testados. Em amostras de ovos, não foram detectadas salmonelas.

Palavras-chave: *Salmonella*, aves, ovos, resistência a antibióticos.

SUMMARY

The prevalence of *Salmonella* in chicken products and hen's eggs, the most frequent serovars and their antimicrobial sensitivity, were investigated in the city of Pelotas, Brazil from May 1997 through October 1998. A total of 124 samples of chicken products obtained from local supermarkets and butcher shops, and 94 samples of eggs (6 units each) obtained from supermarkets and street vendors, were examined through standard cultivation procedures. *Salmonella* were detected in 13 (10,48%) samples of chicken products. Among the 13 strains of salmonellae isolated, 10 were serotyped as *S. enteritidis*, 1 was *S. anatum* and 2 were *S. enterica* subsp. *enterica* sorovar 3,10:e,h:-. All strains isolated were resistant to penicillin G and susceptible to the others antimicrobial drugs tested. Hen's eggs were not found contaminated with salmonellae.

Key words: *Salmonella*, chicken, eggs, antibiotic resistance.

INTRODUÇÃO

As bactérias do gênero *Salmonella* continuam sendo uma das causas mais importantes de toxinfecções alimentares em todo o mundo. As salmonelas têm ampla distribuição na natureza, sendo o trato intestinal do homem e dos animais seu principal reservatório. Alimentos de origem animal, especialmente os obtidos de aves, e alimentos que contenham ovos, como saladas e produtos de confeitaria, têm sido freqüentemente envolvidos em surtos de salmonelose em humanos (ALTEKRUSE *et al.*, 1997; ESTUPIÑAN *et al.*, 1998).

Muitos sorovares de *Salmonella* têm um reservatório animal específico, estando sua transmissão ligada a alimentos obtidos destes animais. Este é o caso de algumas cepas de *Salmonella enteritidis* que tem a capacidade de colonizar o canal ovopositor da galinha, o que pode vir a causar a contaminação da membrana que envolve a gema durante a formação do ovo (HUMPHREY, 1994). O aparecimento dessas cepas no final da década de 80 provocou um aumento do número de casos de infecções relacionadas ao consumo de frangos e alimentos preparados com ovos crus ou insuficientemente cozidos (RODRIGUE *et al.*, 1990).

Assim, a proporção de isolamentos de *S. enteritidis* nos Estados Unidos aumentou de 6% em 1980 para 25% em 1995 (ALTEKRUSE *et al.*, 1997). Entre 1985 e 1991, também nos Estados Unidos, os ovos estiveram envolvidos em 82% dos surtos de toxinfecções alimentares, nos quais o veículo de *S. enteritidis* era conhecido (MISHU *et al.*,

¹Nutricionista, MSc., Curso de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas (UFPel).

²Engenheiro Agrônomo, Especialista, Professor Adjunto, Departamento de Nutrição, UFPel.

³Médico Veterinário, PhD., Professor Titular, Departamento de Nutrição, Campus Universitário, CP 354, 96010-900, UFPel, Pelotas, RS., E-Mail: jaga@ufpel.tche.br. Autor para correspondência.

1994). Na Itália, durante o período de 1982-1992, as porcentagens de isolamentos de *S. enteritidis* aumentaram de 2,4 para 57,1% em humanos e de 0,5 para 22,8% em alimentos (FANTASIA & FILETICI, 1994).

Na Argentina, um aumento significativo do número de isolamentos de *S. enteritidis* tem sido observado desde 1986. Surtos de toxinfecções alimentares foram associados com o consumo de alimentos elaborados com ovos crus ou insuficientemente cozidos (CAFFER & EIGUER, 1994).

No Brasil, refletindo a tendência mundial, investigações recentes de surtos de toxinfecções alimentares ocorridos em diferentes regiões, e de ocorrência de salmonelas em diferentes alimentos, constataram que *S. enteritidis* é atualmente o principal sorovar causador de salmoneloses e o mais prevalente em produtos de frangos (PERESI *et al.*, 1998; GELLI *et al.*, 1998; VITAL BRAZIL *et al.*, 1997).

No Rio Grande do Sul, dados da Divisão de Vigilância Sanitária da Secretaria de Saúde e Meio Ambiente (DVSSSMA), 1997, mostram que, no período de 1987 a 1997, bactérias do gênero *Salmonella* foram responsáveis por 32% das enfermidades de origem alimentar, e que os alimentos preparados e os produtos de confeitaria foram os principais veículos das infecções. Porém, não foram identificados os sorovares causadores dessas enfermidades.

Os objetivos deste trabalho foram os de investigar a ocorrência de salmonelas em produtos de frangos e ovos de galinhas consumidos em Pelotas, identificar os sorovares mais freqüentes e, ainda, verificar a sensibilidade das cepas isoladas a agentes antimicrobianos.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de produtos de frangos

Um total de 124 amostras de produtos de frangos (peito, dorso, coxas, sobrecoxas, coxinha da asa, asa, coração, fígado e moela) foram colhidas em supermercados e açougues de Pelotas no período de maio de 1997 a abril de 1998. As amostras foram obtidas em condições usuais de embalagem, colocadas em caixas de isopor com gelo e transportadas imediatamente ao laboratório, para exame. Para facilitar a análise dos resultados, os diversos produtos amostrados foram agrupados como se segue: Grupo 1 (asa, coxinha da asa e asa com coxinha), Grupo 2 (coxa, coxa com sobrecoxa), Grupo 3 (peito e dorso) e Grupo 4 (coração, moela e fígado).

Amostras de ovos

Um total de 564 ovos, distribuídos em 94 amostras de 6 unidades, foram obtidos em supermercados e feiras livres da cidade de Pelotas, no período de março a outubro de 1998. Dois tipos de ovos foram analisados: os produzidos em granjas (46 amostras) e os produzidos em pequenas propriedades da Região da Colônia de Pelotas (48 amostras). As amostras foram transportadas ao laboratório em condições usuais de embalagem.

Isolamento de salmonelas de produtos de frangos

A metodologia utilizada para o isolamento de salmonelas foi a descrita no Bacteriological Analytical Manual, 7ª edição (FDA, 1992). Para o pré-enriquecimento das amostras dos grupos 1, 2 e 3, o conteúdo total da embalagem foi lavado com 300ml de caldo lactosado em um saco plástico estéril. No caso das amostras do grupo 4, homogeneizaram-se 25g com 225ml de caldo lactosado em um liquidificador. O caldo de pré-enriquecimento foi então incubado por 24 ± 2 h, à temperatura de 37°C e, a seguir, procedeu-se ao enriquecimento seletivo em 10ml de caldo selenito cistina (SC) e em 10ml de caldo tetrionato (TT) em incubadora a 37°C, durante 24 ± 2 h. Para isolamento de colônias, foi realizada a semeadura em superfície de ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD) e ágar Hektoen Enteric (HE), com incubação à temperatura de 37°C, por 24 ± 2 h. Pelo menos duas colônias suspeitas de serem salmonelas foram submetidas à semeadura em ágar Tríplice Açúcar e Ferro (TSI), ágar Lisina e Ferro (LIA) e caldo uréia (UA). As cepas que apresentaram comportamento bioquímico característico do gênero *Salmonella* foram submetidas à prova de soroaglutinação rápida em lâmina, empregando-se inicialmente soro polivalente somático e, posteriormente, soros monovalentes grupo-específico para identificação do sorogrupo.

Isolamento de salmonelas de ovos

Os ovos foram analisados em grupos de seis, sendo colhido material da superfície e do conteúdo para análise. Inicialmente, os ovos foram colocados em um bequer estéril onde foram imersos em 225ml de caldo lactosado. O caldo lactosado foi, em seguida, transferido para outro frasco estéril e incubado, durante 24 ± 2 h, à temperatura de 37°C para o pré-enriquecimento da amostra.

Os ovos foram então lavados em água corrente, imersos em uma solução de cloreto de mercúrio 0,1%, durante 1 hora e, depois, em uma solução de etanol a 70%, por 30 minutos. A seguir, foram assepticamente quebrados e o seu conteúdo

reunido e misturado em um frasco estéril. Pipetavam-se 30ml da mistura para 300ml de caldo lactosado e incubava-se, durante 24 ± 2 h, à temperatura de 37°C, para pré-enriquecimento. Os procedimentos para enriquecimento seletivo, isolamento de colônias suspeitas e confirmação dos isolamentos foram iguais aos descritos anteriormente para os produtos de frangos.

Teste de sensibilidade a antibióticos

O teste de sensibilidade a antibióticos foi realizado pelo método de Kirby-Bauer (BAUER *et al.*, 1966). Discos de papel filtro, contendo agentes antimicrobianos, foram colocados em placas contendo meio de Mueller-Hinton inoculado com culturas das cepas isoladas em uma densidade equivalente ao padrão 0,5 de McFarland. As placas eram então incubadas, à temperatura de 37°C, por 24h. Os antimicrobianos estudados foram amicacina (30mcg), ampicilina (10mcg), cefotaxima (30mcg), ceftriaxona (30mcg), cloranfenicol (30mcg), gentamicina (10mcg), norfloxacin (10mcg), perfloxacin (5mcg), penicilina G (10UI), cotrimoxazol (25mcg) e tetraciclina (30mcg) (Cefar Diagnóstica, São Paulo).

Identificação das cepas isoladas

As cepas isoladas pela metodologia descrita anteriormente foram enviadas para o Laboratório de Enterobactérias do Departamento de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, para identificação definitiva dos sorovares.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 1 mostra o resultado do isolamento de salmonelas de amostras de produtos de frangos obtidas em supermercados e açougues de Pelotas. Foram detectadas 13 amostras contaminadas

Tabela 1 - Prevalência de salmonelas em produtos de frangos obtidos em dois tipos de estabelecimentos comerciais em Pelotas, RS.

Produtos de frangos	Amostras positivas / Amostras testadas		
	Supermercado	Açougue	Total
Grupo 1	0 / 16	1 / 11	1 / 27
Grupo 2	1 / 15	4 / 15	5 / 30
Grupo 3	0 / 12	2 / 11	2 / 23
Grupo 4	3 / 23	2 / 21	5 / 44
Total	4 / 66	9 / 58	13 / 124

Grupo 1 - Asa, coxinha da asa e asa com coxinha

Grupo 2 - Coxa e coxa com sobrecoxa

Grupo 3 - Peito e dorso

Grupo 4 - Miúdos (coração, moela e fígado).

entre as 124 analisadas (prevalência de 10,48%); resultado similar (12,24%) ao encontrado por NASCIMENTO *et al.* (1997b), que analisou amostras de produtos de frangos provenientes de avícolas da região sul, porém inferior às prevalências encontradas em outras regiões do país, que variaram entre 17 e 53% (FUZIHARA *et al.*, 1998; PERESI *et al.*, 1998 e SANTOS *et al.*, 1998).

Essas diferenças podem ser atribuídas a variações da metodologia convencional de cultivo adotadas nos diferentes laboratórios, como uso de diferentes meios de cultura e de tempos e temperaturas de enriquecimentos. Também o local de obtenção das amostras pode ter influenciado nas taxas de prevalência encontradas nas diferentes regiões. Nos trabalhos com alta prevalência de produtos contaminados, as amostras, geralmente, foram obtidas diretamente nos abatedouros e em diferentes etapas do processamento, enquanto que, neste trabalho, as amostras foram obtidas em estabelecimentos de venda ao consumidor, onde os produtos estão expostos a grandes variações na temperatura de estocagem que podem ocasionar injúria celular, especialmente em bactérias Gram negativas como as salmonelas, tornando mais difícil sua detecção (FARKAS, 1997).

As amostras dos grupos 2 e 4 (coxa, coxa com sobrecoxa e miúdos) apresentaram uma contaminação maior do que nos outros dois grupos. Porém, esta diferença na contaminação dos diferentes grupos de produtos não foi estatisticamente significativa ($p=0,45$), quando analisada pelo teste Qui-quadrado. Observou-se, também, uma tendência maior de contaminação nos produtos à venda nos açougues do que naqueles à venda nos supermercados. No primeiro tipo de estabelecimento, são comuns práticas de manipulação inadequadas, ausência de controle de portadores assintomáticos e variações nas temperaturas de conservação dos produtos, o que favorece a multiplicação de salmonelas e outras bactérias. Nos supermercados, os produtos de frangos estão embalados em plásticos e bem refrigerados ou congelados, o que reduz a contaminação cruzada e retarda a multiplicação bacteriana.

Entre os 13 isolamentos realizados, 10 (77%) foram tipificados como *S. enteritidis*, que pertencem ao sorogrupo D. Os três isolamentos restantes foram salmonelas do sorogrupo E₁, sendo 1 (7,7%) tipificado como *S. anatum* e os 2 (15,3%) restantes como *S. enterica*, subespécie *enterica* sorovar 3,10:e,h:-. A maior prevalência de *S. enteritidis* confirma uma tendência que vem ocorrendo em nível mundial, desde o fim da década passada

(RODRIGUE *et al.*, 1990), e, no Brasil, desde 1993 (GELLI *et al.*, 1998; VITAL BRAZIL, *et al.*, 1997). No Rio Grande do Sul (RS), até recentemente, o sorovar predominante em produtos de frangos era *S. hadar*, com cerca de 65% dos isolamentos, vindo *S. enteritidis* em segundo lugar com apenas 8% dos isolamentos (NASCIMENTO *et al.*, 1997b).

O teste de resistência a antimicrobianos revelou que todas as cepas isoladas foram resistentes à penicilina G e sensíveis aos demais. O perfil de sensibilidade e resistência à antimicrobianos dos sorovares de salmonelas isolados de alimentos em uma determinada região, além de ser um importante marcador epidemiológico, serve para orientar procedimentos terapêuticos em medicina humana e veterinária. Outro trabalho realizado com cepas de *Salmonella* sp., isoladas a partir de produtos de frangos de outras regiões do RS, encontrou 100% de resistência à tetraciclina (NASCIMENTO *et al.*, 1997a), o que sugere diferenças entre as cepas prevalentes nestas regiões.

As 94 amostras de superfície e conteúdo (clara e gema) dos ovos de galinha provenientes de granjas ou da região da Colônia de Pelotas analisadas, neste trabalho, não se apresentaram contaminadas com salmonelas. Geralmente, a contaminação da casca ou do conteúdo dos ovos é baixa, ao redor de 1%, a não ser que eles sejam provenientes de lotes de aves infectadas com salmonelas (HUMPHREY, 1994). Em outros trabalhos realizados no interior do Estado de São Paulo, foram encontradas contaminações por *Salmonella* em torno de 3,9% e 9,6% em amostras de superfície e 3,6% em amostras de conteúdo de ovos (LANGONI *et al.*, 1995; OLIVEIRA & SILVA, 1998). Tais resultados sugerem que os ovos analisados provinham de lotes de animais infectados com salmonelas.

Os resultados do presente trabalho indicam que muitos produtos de frangos comercializados em Pelotas, RS, Brasil, encontram-se contaminados com diferentes sorovares de salmonelas, especialmente *S. enteritidis*, devendo, portanto, sofrer cocção e manipulação adequadas para prevenção de surtos de salmonelose.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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. **Am J Clin Pathol** v.45, p.493-496, 1966.
- CAFFER, M.I., EIGUER, T. *Salmonella enteritidis* in Argentina. **Int J Food Microb**, v.21, p.15-19, 1994.
- 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) en Latinoamérica y el Caribe. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE MICROBIOLOGIA E HIGIENE DE ALIMENTOS, 5, 1998, Águas de Lindóia, SP. **Anais...** São Paulo: Sociedade Brasileira de Microbiologia, 1998. v.1, 154p. p.69.
- FANTASIA, M., FILETICI, E. *Salmonella enteritidis* in Italy. **Int J Food Microb**, v.21, p.7-13, 1994.
- FARKAS, J. Physical methods of food preservation. In: M.P. DOYLE, L.R. BEUCHAT, T.J. MONTVILLE (eds.). **Food microbiology: fundamentals and frontiers**. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1997. Cap.28. p.497-519.
- FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Bacteriological Analytical Manual**. 7 ed. Arlington: AOAC International, 1992. 529 p.
- FUZHARA, T.O., FRANCO, B.D.G.M., FERNANDES, S.A., *et al.* Ocorrência de *Salmonella* em carcaças de frango comercializada em avícolas e disseminação da bactéria ao longo da linha de abate de frangos de corte. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE MICROBIOLOGIA E HIGIENE DE ALIMENTOS, 5, 1998, Águas de Lindóia, SP. **Anais...** São Paulo : Sociedade Brasileira de Microbiologia, 1998. v.1, 154p. p.109.
- GELLI, D.S., JAKABI, M., SAKATA, H. *et al.* Salmonelas isoladas de alimentos no período de 1985-1996 no Estado de São Paulo, Brasil. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE MICROBIOLOGIA E HIGIENE DE ALIMENTOS, 5, 1998, Águas de Lindóia, SP. **Anais...** São Paulo : Sociedade Brasileira de Microbiologia, 1998. v.1, 154p. p.105.
- HUMPHREY, T.J. Contamination of egg shell and contents with *Salmonella enteritidis*: a review. **Int J Food Microb**, v.21, p.31-40, 1994.
- LANGONI, H., PRADO, R.A.T., PINTO, J.P.A.N. Isolamento de salmonelas em ovos de galinha oferecidos para consumo no comércio de Botucatu – SP. **Higiene Alimentar**, v.9, n.37, p.45-47, 1995.
- MISHU, B., KOEHLER, J., LEE, L.A. *et al.* Outbreaks of *Salmonella enteritidis* infections in the United States, 1985-1991. **J Infect Dis**, v.169, p.547-552, 1994.
- NASCIMENTO, V.P., CARDOSO, M.O., RIBEIRO, A.R., *et al.* Prevalência e perfis de resistência de *Salmonella* isoladas de carcaças de frango frente a antimicrobianos e desinfetantes selecionados. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 19, 1997^o, Rio de Janeiro, RJ. **Anais...** São Paulo : Sociedade Brasileira de Microbiologia, 1997a v.1, 344p. p.291.
- 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, 1997b, Rio de Janeiro, RJ. **Anais...** São Paulo, Sociedade Brasileira de Microbiologia, v.1, 344p. p.287.
- OLIVEIRA, D.D., SILVA, E.N. Salmonelas em casca e gema de ovos comerciais de galinha. Estudo de condições de contaminação e sanitização. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA E HIGIENE DE ALIMENTOS, 5, 1998. Águas de Lindóia, SP. **Anais...** São Paulo : Sociedade Brasileira de Microbiologia, 1998. v.1, 154p. p.276.
- PERESI, J.T.M.I., ALMEIDA, I.A.Z.C., CARVALHO, I.S., *et al.* *Salmonella* Enteritidis: Ocorrência de 28 surtos de enfermidades transmitidas por alimentos no Noroeste do Estado de São Paulo. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE MICROBIOLOGIA E HIGIENE DE ALIMENTOS, 5, 1998, Águas de Lindóia, SP. **Anais...** São Paulo : Sociedade Brasileira de Microbiologia, 1998. v.1, 154p. p.279.
- RODRIGUE, D.C., TRAUXE, R.V., ROWE, B. Internacional increase in *Salmonella enteritidis*: a new pandemic? **Epidemiol Infect** v.105, p.21-27, 1990.
- SANTOS, A.C., GONZALEZ, A.G.M., NUNES, L.S. *et al.* Frequência de *Salmonella* em carcaças de frango comercializadas nas cidades do Rio de Janeiro e Niterói. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE MICROBIOLOGIA E HIGIENE DE ALIMENTOS, 5, 1998, Águas de Lindóia, SP. **Anais...** São Paulo : Sociedade Brasileira de Microbiologia, 1998. v.1, 154p. p.68.
- VITAL BRAZIL, J.M., COSTA, R.G., REIS, E.M.F. *et al.* Caracterização antigênica e perfil de resistência aos antimicrobianos de salmonelas isoladas de aves e suínos de diferentes regiões do país. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 19, 1997, Rio de Janeiro, RJ. **Anais...** São Paulo : Sociedade Brasileira de Microbiologia, v.1, 344p. p.282.