

Avaliação da virulência e da sensibilidade antimicrobiana de cepas de Salmonella Enteritidis isoladas do campo, de carcaças de frango e de alimentos envolvidos em surtos de salmonelose em humanos

SARA NEVES SOUZA¹, HAMILTON LUIZ DE SOUZA MORAES²

1 Autor, Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul 2 Orientador, Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

CA - Ciências Agrárias

INTRODUÇÃO

Salmonella é o agente mais comum de doenças transmitidas por alimentos, e o sorovar S. Enteritidis (SE) é o mais isolado mundialmente¹⁶. A patogenicidade está relacionada à virulência e à resistência antimicrobiana¹². A virulência depende da combinação de fatores que propiciam a invasão e colonização das células do hospedeiro^{12,13}. sefA, lpfA, lpfC, agfA e pefA são genes codificadores de fímbrias, importantes no processo de adesão e invasão⁴. O gene stn está associado com a gastroenterite em humanos⁷. Os antimicrobianos são usados com grande frequência na cadeia avícola, mas o uso incorreto ou indiscriminado em animais de produção pode gerar microrganismos resistentes no produto final, representando um risco ao consumidor^{1,5,15,17}. Estudos recentes têm demonstrado uma possível associação entre características de resistência antimicrobiana e perfil genético entre cepas isoladas de casos clínicos humanos e de produtos de origem avícola⁶. O objetivo deste trabalho foi pesquisar genes associados à virulência e avaliar a sensibilidade antimicrobiana de cepas de S. Enteritidis pertencentes a diferentes origens: campo, produto final e de alimentos envolvidos em casos de salmonelose em humanos.

MATERIAIS E MÉTODO

60 cepas de S. Enteritidis:



20 cepas isoladas do campo



20 cepas isoladas de carcaças (produto)



20 cepas isoladas de alimentos envolvidos em surtos

1. Pesquisa de genes de virulência:

sefA, IpfA, IpfC, agfA, pefA, stn



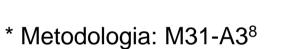
2. Teste de sensibilidade a antimicrobianos:

- Amoxicilina
- Gentamicina
- Ceftiofur
- Tetraciclina
- Ciprofloxacina
- Sulfafurazol Trimetoprim + sulfametoxazol
- Enrofloxacina

Espectinomicina

- sensível, intermediário ou resistente

- multirresistência: 3 ou mais classes¹²



RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. Pesquisa de genes de virulência:

Tabela 1 – Resultado da pesquisa de genes por PCR

Genes	Frequência			
	Campo	Produto	Humano	
sefA	100%	100%	100%	determinação do sorovar SE ¹³
<i>lpfA</i>	100%	100%	100%	6 - 2 0 40
agfA	100%	100%	100%	frequentes apenas em SE ^{3, 9, 10}
<i>lpfC</i>	100%	100%	85%	> variação conforme a origem
pefA	95%	85%	95%	gene de origem plasmidial
stn	85%	80%	90% -	associado à gastroenterite em
				humanos ⁷

Todos os genes apresentaram uma alta ocorrência nos isolados, independentemente da origem. Isso demonstra que os mesmos genes estão circulando nos isolados de diferentes origens.

2. Teste de sensibilidade a antimicrobianos:

Tabela 2 – Resultado do teste de sensibilidade antimicrobiana

Antimiarabiana	Frequência			- todas as cepas de todos os grupos foram
Antimicrobiano	Campo	Produto	Humano	sensíveis a espectinomicina, amoxicilina e
amoxicilina	100%	100%	100%	ciprofloxacina
ceftiofur	90%	85%	100%	- a maior resistência encontrada foi para a
ciprofloxacina	100%	100%	100%	·
espectinomicina	100%	100%	100%	sulfa em todos os grupos, apenas 21,7%
enrofloxacina	60%	90%	85%	do total de cepas foi sensível
gentamicina	80%	95%	100%	- maiores resistências
sulfafurazol	10%	0%	55%	campo: enrofloxacina, gentamicina, sulfa
tetraciclina	100%	90%	80%	produto: ceftiofur, sulfa
trimetoprim + sulfa	90%	95%	100%	
				humanos: enrofloxacina, sulfa

11,7% dos isolados foram considerados multirresistentes. Cepas com resistência múltipla têm aumentado ao longo dos anos, sendo preocupação para a cadeia avícola^{11,17}.

CONCLUSÃO

Com os dados obtidos neste trabalho, é possível observar que as cepas de Salmonella Enteritidis isoladas de alimentos envolvidos em surtos de salmonelose compartilham uma alta similaridade em relação ao padrão de genes de virulência e à resistência antimicrobiana com aquelas isoladas do campo e de produtos finais. Novos estudos são importantes para pesquisar se as cepas circulando entre estas origens pertencem a um mesmo clone.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, R.T.; PALERMO-NETO, J. Uso de antimicrobianos em avicultura e o desenvolvimento de resistência bacteriana. In: PALERMO-NETO, J.; SPINOSA H.S.; GÓRNIAK, S.L. (Ed.). Farmacologia aplicada à avicultura. 1.ed. São Paulo: Editora Roca, p.161-173, 2005.
- 2. AMINI, K.; SALEHI, T.Z.; NIKBAHKHT, G.; RANJBAR, R.; AMINI, J.; ASHRAFGANJOOEI, S.B. Molecular detection of invA and spv virulence genes in Salmonella Enteritidis isolated from human and animals in Iran. African Journal of Microbiology Research, v.4, n.21, p.2202-2210. 2010.
- events to development of distinctive patterns of fimbrial operon during evolution of Salmonella serotypes. Journal of Bacteriology, v.179, n.2, 1997. p.317-322 BISHOP, A.L.; DOUGAN, G.; BAKER, S. The Salmonella genome: a global review. In: MASTROENI, P.; MASKELL, D. (Ed.) Salmonella infections: Clinical,

BÄUMLER, A.J.; GILDE, A.J.; TSOLIS, R.M.; VAN DER VELDEN, W.M. AHMER, B.M.M.; HEFFRON, F. Contribution of horizontal gene transfer and deletion

- Immunological and Molecular Aspects, 1.ed. New York: University Press, p.117-145, 2006. CAMPIONI, F.; BERGAMINI, A.M.M.; FALCÃO, J.P. Genetic diversity, virulence genes and antimicrobial resistance of Salmonella Enteritidis isolated from food
- and humans over a 24-year period in Brazil. Food Microbiology, v.32, p.254-264, dez. 2012. 6. CDC - CENTER FOR DISEASE CONTROL. Making Food Safer to Eat: Reducing contamination from the farm to the table. Disponível em: .">http://www.cdc.gov>. Acesso em 18 de janeiro de 2013.
- CLSI. Clinical and Laboratorial Standards Institute. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals. CLSI M31-A3, v.28, n.8, 2008. 116p.
- 8. CHOPRA, A.K.; HUANGA, J.H.; XUA, X.J.; BURDENA, K.; NIESELA, D.W.; ROSENBAUMA, M.W.; POPOVB, V.L.; PETERSON, J.W. Role of Salmonella enterotoxin in overall virulence of the organism. Microbial Pathogenesis, v.27, p.155–171. 1999.
- 9. CRACIUNAS, C.; KEUL, A.L.; FLONTA, M.; CRISTEA, M. DNA-based diagnostic tests for Salmonella strains targeting hilA, agfA. spvC and sefC genes. Journal of Environmental Management, v.3, p.1-4, mar. 2012Elemfareji e Thong, 2013
- 10. ELEMFAREJI, O.I.; THONG, K.L. Comparative Virulotyping of Salmonella typhi and Salmonella enteritidis. Indian Journal of Microbiology, v.53, n.4, p.410–417, out-dez. 11. LERTWORAPREECHA, M.; SUTTHIMUSIK, S.; TONTIKAPONG, K. Antimicrobial Resistance in Salmonella enterica Isolated from Chicken, and Vegetables in Southern
- Thailand. Jundishapur Journal of Microbiology. v.6, n.11, p.36-41, 2013. 12. MADIGAN, M.T.; MARTINKO, J.M.; DUNLAP, P.L.; CLARK, D.P. Princípios de Genética Bacteriana. In: Porto Alegre: Artmed, p.278-283, 2010.
- 13. NASHWA, M.H.; MAHMOUD, A.H.; SAMI, S.A. Application of multiplex Polymerase Chain Reaction (MPCR) for identification and characterization of Salmonella Enteritidis
- and Salmonella Typhimurium. Journal of Applied Sciences Research, v.5, n.12, p.2343-2348, maio, 2009. 14. SCHWARZ, S.; SILLEY, P.; SIMJEE, S.; WOODFORD, N.; VAN DUIJKEREN, E.; JOHNSON, A.P.; GAASTRA, W. Multi-resistance. DTU Food, National Food Institute
- Newsletter to the National Reference Laboratories for Antimicrobial Resistance, n.4, 2010. p.1-4 15. TONDO, E.C.; RITTER, A.C. Salmonella and Salmonellosis in Southern Brazil: a review of the last decade. In: MONTES, A.S.; SANTOS, P.E. (Eds.). Salmonella: classification, genetics and disease outbreaks. 1.ed. N ova Science Publishers, p.175-191, 2012.
- 16. VIEIRA, A.; JENSEN, A.R.; PIRES, S.M.; KARLSMOSE, S.; WEGENER, H.C.; WONG, D.L.F. WHO Global Foodborne Infections Network Country Databank A resource to link human and non-human sources of Salmonella. Proceeding of the 12th Symposium of the International Society for Veterinary Epidemiology and Economics. In: ISVEE Conference, Durban, South Africa, 2009.
- 17. ZOU, M.; KEELARA, S.; THAKUR, S. Molecular Characterization of Salmonella enterica Serotype Enteritidis Isolates from Humans by Antimicrobial Resistance, Virulence Genes, and Pulsed-Field Gel Electrophoresis. Foodborne Pathogens And Disease, v.9, n.3, 2012.