

OCORRÊNCIA DE *SALMONELLA* SPP. E RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS EM PEIXE FRESCO COMERCIALIZADO EM FEIRAS LIVRES EM CUIABÁ-MT

Data de aceite: 02/10/2023

Helen Cristine Leimann Winter

Discente do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso, Campus Cuiabá Bela Vista, Cuiabá-MT

Natália Marjorie Lazon de Moraes

Discente do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso, Campus Cuiabá Bela Vista, Cuiabá-MT

Thamara Larissa de Jesus Furtado

Discente do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso, Campus Cuiabá Bela Vista, Cuiabá-MT

Alessandra Almeida da Silva

Discente do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso, Campus Cuiabá Bela Vista, Cuiabá-MT

Jackeline Nerone Leite

Discente do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso, Campus Cuiabá Bela Vista, Cuiabá-MT

Daniel Oster Ritter

Docente do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso, Campus Cuiabá Bela Vista, Cuiabá-MT

Marilu Lanzarin

Docente do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso, Campus Cuiabá Bela Vista, Cuiabá-MT

INTRODUÇÃO

Entre os alimentos de origem animal, o pescado se destaca em termos nutricionais, devido à presença de proteínas, vitaminas e minerais, além de ser uma excelente fonte de ácidos graxos essenciais e fácil digestibilidade, porém altamente perecível e, por isso, são mais susceptíveis a contaminação microbiana, devido sua composição e a riqueza de nutrientes que servem de substrato para a instalação de microrganismos (Costa, 2016).

A *Salmonella* é a principal causa de doenças de origem alimentar com dezenas de milhões de casos por ano em todo o mundo (WHO, 2015). O Center for Disease Control Prevention (CDC) dos Estados Unidos estima que mais de um milhão de casos ocorram por ano. Entre 2000 e 2015

foram notificados 12.503 surtos por agentes etiológicos no Brasil, com 236.403 pessoas doentes registrados no Ministério da Saúde, sendo a *Salmonella* sp. a maior causa com 30% dos casos. Em relação aos surtos alimentares (DTA's), diversos casos relatados são associados ao consumo de pescado, seja ele consumido cru ou aquecido insuficientemente ou recontaminados pós processamento.

Dentre as Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA's), destaca-se a *Salmonella*, responsável pela ocorrência de salmoneloses em humanos, sendo *Salmonella enteritidis* e *Salmonella typhimurium* os sorotipos de maior importância (Silva *et al.*, 2017). Por ser altamente patogênica ao homem e por estar presente no trato gastrointestinal, tanto de animais quanto de humanos, seu controle é de extrema importância para a saúde pública. A prevenção requer cuidados em todas as etapas da cadeia alimentar, desde o campo até o processamento e o preparo de alimentos (WHO, 2015).

A *Salmonella* pode causar grandes problemas durante a produção de peixes, visando ter o controle de enfermidades causadas são utilizados agentes antimicrobianos, porém o uso extensivo desses produtos em animais destinados a alimentação humana é uma das prováveis causas da emergência de cepas de *Salmonella* resistentes, ocasionando obstáculos aos procedimentos clínicos, além de aumentar os custos do tratamento e das doenças na população humana (Pandini *et al.*, 2014).

Neste contexto, o projeto tem como objetivo verificar a ocorrência e a resistência a antimicrobianos de *Salmonella* sp. em peixes frescos comercializados em feiras livres do município de Cuiabá – MT.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado o levantamento das feiras livres de comercialização de peixes frescos com cortes de ventrecha, em Cuiabá-MT. Para a coleta, considerando a situação de pandemia, houve redução no número de estabelecimentos funcionando, assim foram possíveis obter seis amostras em dois locais de feiras livres abertas ao público. As amostras foram armazenadas em caixa térmica com gelo reciclável e imediatamente encaminhadas para o Laboratório de Análise Microbiologia de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso Campus Cuiabá Bela Vista para realização das análises.

A determinação da presença de *Salmonella* sp. nas amostras foi realizada de acordo com a metodologia proposta pela Associação Brasileira de Normas Técnicas ISO 6579 (2014) seguindo as etapas de pré-enriquecimento, com a pesagem de 25g da amostra, diluição em 225mL de água peptonada tamponada e incubação por 24 horas a 37°C; o enriquecimento seletivo foi realizado transferindo 0,1mL do pré-enriquecimento em 10mL de Caldo Rappaport Vassiliadis e incubação por 24 horas a 41,5°C, e transferindo 1mL do pré-enriquecimento em 10mL de Caldo Mueller Kauffman Tetrionato Novobiocina e

incubação por 24 horas a 37°C; o plaqueamento foi realizado por estrias de esgotamento em Ágar Verde Brilhante e Ágar de Desoxicolato-Lisina-Xilose, incubados por 24 horas a 37°C; as colônias características foram purificadas em Ágar Nutriente e submetidas a confirmação bioquímica em Ágar Tríplice Açúcar e Ferro, Ágar Lisina Ferro, Ágar Uréia, Reação de Indol e Reação de Voges-Proskauer.

A suscetibilidade a antimicrobianos foi avaliada seguindo a metodologia proposta por Silva e colaboradores (2017), iniciando pela suspensão das colônias isoladas em solução salina estéril (NaCl 0,85%) até a obtenção de turvação 0,5 na escala Mac Farland. Com um swab estéril a suspensão foi inoculada em toda superfície da placa contendo o Ágar Mueller-Hinton, e após a secagem da suspensão foram adicionados os antibióticos Trimetoprim combinado com Sulfametoxazol, Tetraciclina, Cloroanfenicol, Ampicilina, Piperaciclina e Amoxicilina, conforme padrões do Clinical Laboratory Institute (CLSI) 2020 no grupo *Enterocteriaceae*. A incubação foi realizada por 24 horas a 37°C e a leitura das placas consistiu em medir o diâmetro dos halos inibitórios formados em cada disco.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi verificada a presença de *Salmonella* sp. em cinco das 12 amostras analisadas, sendo quatro do local A e 1 do local B, conforme apresenta a Tabela 1.

	Estabelecimento A	Estabelecimento B
Amostra 1	Ausente	Presente
Amostra 2	Presente	Ausente
Amostra 3	Presente	Ausente
Amostra 4	Presente	Ausente
Amostra 5	Ausente	Ausente
Amostra 6	Presente	Ausente
Total	66,67%	16,67%

Tabela 1: Presença de cepas de *Salmonella* sp. em cada amostra analisada

Através da Tabela 1 é possível perceber que o estabelecimento A possui maiores níveis de contaminação por *Salmonella* sp. comparado com o estabelecimento B. Possivelmente o local B possui maior cuidado quanto ao controle de qualidade dos pescados, desde sua obtenção até sua limpeza e preparo dos cortes.

A *Salmonella* sp. não é um microrganismo naturalmente encontrado em matrizes alimentares como pescado, sendo assim sua contaminação está relacionada com outros fatores, tais como a ocorrência de possíveis falhas operacionais, especialmente nas etapas de descamação e evisceração, que são os principais pontos do fluxograma de obtenção do pescado que expõem a carne à contaminação bacteriana; a qualidade da água de represas

de criação; criação compartilhada de pescado e outras espécies na mesma propriedade; e localização das represas, que se mal localizadas podem receber grandes quantidades de água de superfícies e conseqüentemente contaminantes (Mataca, 2014; Oliveira, 2019; WHO, 2015).

A salmonelose é uma doença transmitida por alimento (DTA) conhecida por causar infecções humanas, associada à mortalidade em países de baixa renda (WHO, 2015). Uma das principais formas de tratamento é com o uso de antibióticos que, além de suprimir a microbiota intestinal normal, rompendo o efeito protetor, aumenta a vantagem competitiva das salmonelas antibiótico-resistente (Carvalho, 2009).

O uso de antimicrobianos na aquicultura é um importante recurso, mas é necessário que sejam cuidadosamente regulados e supervisionados uma vez que a produção intensa requer a utilização de uma grande quantidade destes medicamentos que atuam na seleção de bactérias resistentes. Além disso o uso racional de antimicrobianos na aquicultura, assim como em outras criações animais, deve ser adotado como uma das medidas necessárias ao estabelecimento do conceito de Saúde Única (Gazal *et al.*, 2018).

A resistência dos microrganismos às bases antimicrobianas é múltipla, como por exemplo por ação enzimática, ativação de mecanismos de bomba de efluxo, alteração de permeabilidade e modificação do sítio alvo de ação do antibiótico (Oliveira, 2019).

As cepas de *Salmonella* sp. isoladas foram analisadas quanto a sua resistência a antibióticos, conforme apresenta a Tabela 2.

Antibióticos	Sensíveis		Intermediário		Resistentes	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Trimetoprim combinado com Sulfametoxazol	5	100	-	-	-	-
Tetraciclina	5	100	-	-	-	-
Cloroanfenicol	4	80	1	20	-	-
Ampicilina	3	60	1	20	1	20
Piperacilina	5	100	-	-	-	-
Amoxicilina	3	60	-	-	2	40

Tabela 2: Frequência da suscetibilidade de *Salmonella* sp. aos antimicrobianos estudados

- Dado numérico igual a zero.

Os antibióticos podem ser classificados em β -lactâmicos (penicilinas, cefalosporinas, carbapeninas, oxapeninas e monobactamas), tetraciclina, aminoglicosídeos, macrolídeos, peptídicos cíclicos (glicopeptídeos, lipodepsipeptídeos), estreptograminas, entre outros (Guimarães *et al.*, 2010). De acordo com a Tabela 2 é possível observar que a ampicilina e amoxicilina apresentaram maiores resistências entre as cepas, possivelmente

se deve ao uso frequente destes antibióticos do grupo de β -lactâmicos para controle de infecções em pescados, sendo necessário realizar a combinação de amoxicilina com ácido clavulânico para melhor atuação (Oliveira *et al.*, 2014).

Uma das cepas isoladas apresentou multirresistência a antimicrobianos, fator preocupante para saúde mundial já que se tem observado índices crescentes de prevalência de cepas circulantes com essa característica, que se deve ao uso indiscriminado de antibióticos reduzindo a eficácia dos mesmos no tratamento de salmonelose e aumentando a gravidade dos casos (Oliveira, 2019).

A sensibilidade ao Trimetoprim combinado com Sulfametoxazol é verificada em outras pesquisas já que esse medicamento apresenta maior atividade antimicrobiana quando comparado a outros antimicrobianos ou quando utilizados individualmente, além disso, a associação foi selecionada devido à sua atividade sinérgica e pela similaridade das meias vidas dos dois fármacos (Sanjee *et al.*, 2016).

As cepas analisadas apresentaram sensibilidade a tetraciclina, diferente de pesquisas realizadas por Carvalho e colaboradores (2009), Conceição e colaboradores (2007) e Pandini e colaboradores (2014) que observaram resistência e resistência intermediária da maior parte das cepas de *Salmonella* sp. analisadas. A resistência a esse antibiótico é preocupante já que é uma droga frequentemente utilizada para tratamentos infecciosos, levando a uma pressão na seleção das cepas resistentes de *Salmonella* sp. nos animais que, mais tarde, são transmitidas ao homem (Evangelista-Barreto *et al.*, 2013).

A Tabela 2 mostra que todas as cepas apresentaram sensibilidade ao antimicrobiano piperacilina, assim como observado por Cordeiro e colaboradores (2020) ao avaliar a suscetibilidade a antimicrobianos de *Salmonella* sp. isolados de *sashimi*.

Apenas uma cepa apresentou resistência intermediária ao cloroanfenicol enquanto as demais foram sensíveis, resultado semelhante ao observado por Costa (2016) que obteve sensibilidade de 50% dos isolados de *Salmonella* sp. ao cloroanfenicol.

CONCLUSÃO

A presença de *Salmonella* sp. foi observada nos dois locais analisados, indicando possíveis falhas na criação do pescado ou durante a sua manipulação, limpeza e corte para comercialização. A resistência dos isolados aos antimicrobianos analisados foi observada principalmente pela amoxicilina e penicilina, sendo necessário verificar o possível uso exagerado desses fármacos, já que a resistência microbiana pode ser ocasionada pelo excesso de antibióticos durante a criação. Foi observada sensibilidade quanto ao Trimetoprim combinado com Sulfametoxazol, Tetraciclina e Piperacilina.

REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR ISO 6579: *Microbiologia de alimentos para consumo e animal – Método horizontal para a detecção de Salmonella spp.* 1 ed. 2014.

BAUER, A. W.; KIRBY, W. M.; SHERRIS, J. C.; TURCK, M. Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method. *American Journal of Clinical Pathology*, v. 45, p.493–496, 1966.

CARVALHO, F. C. T.; BARRETO, N. S. E.; REIS, C. M. F.; HOFER, E.; VIEIRA, R. H. S. F. Susceptibilidade Antimicrobiana de *Salmonella* spp. Isoladas de Fazendas de Carcinoculturas no Estado do Ceará. *Revista Ciência Agronômica*, v. 40, p. 549-556, 2009.

CLSI - CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing*, v. 28, 2018.

CONCEIÇÃO, R. C. S.; HENTGES, A.; MOREIRA, A. N.; VASCONSELLOS, F. A.; ÂNGELO, I. M. R.; CARVALHI, J. B.; ALEIXO, J. A. G.; TIMM, C. D. Isolamento de *Salmonella* de Produtos de Frango e Perfil de Suscetibilidade dos Isolados a Antimicrobianos. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*. V. 1, 2007.

CORDEIRO, K. S.; GALENO, L. S.; MENDONÇA, C. J. S.; CARVALHO, I. A.; COSTA, F. N. Ocorrência de bactérias patogênicas e deteriorantes em sashimi salmão: avaliação de histamina e de susceptibilidade a antimicrobianos. *Brazilian Journal Food Technology*. V. 3, 2020.

COSTA, T. D. *Qualidade Microbiológica e Perfil de Sensibilidade Antimicrobiana dos Isolados de Tilápias (Oreochromis spp.) de Pesque-Pague da Microrregião do Estado de São Paulo*. 2016. 93f. Universidade Estadual Paulista - Medicina Veterinária (Dissertação). 2016.

EVANGELISTA-BARRETO, N. S.; PEREIRA, A. F.; SILVA, R. A. R.; FERREIRA, L. T. B. Carne de Siri como Veículo na Disseminação de Enteropatógenos Resistentes aos Antimicrobianos. *Acta of Fisheries and Aquatic Resources*. V. 1, p. 45-46, 2013.

GAZAL, L. E. S; BRITO, K. C. T; CAVALLI, L. S.; KOBAYASHI, R. K. T.; NAKAZATO, G.; OTUTUMI, L. K.; CUNHA, A. C.; PIRES NETO, J. A. S.; BRITO, B. G. *Salmonella* sp. em peixes – Qual a importância para sanidade em pescado?. *Pesquisa Agropecuária Gaúcha*, V. 24, p. 55-64, 2018.

GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. S.; PUPO, M. T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. *Revista Química Nova*. V. 3, 2010.

MATACA, A. R. *Estudo da frequência de Salmonella spp. no pescado comercializado no Brasil*. 2014. 34p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária. 2014.

OLIVEIRA, A. L. D.; SOARES, M. M.; SANTOS, T. C. D.; SANTOS, A. D. Mecanismos de Resistência Bacteriana a Antibióticos na Infecção Urinária. *Revista Uningá*. V.20, p. 65-71, 2014.

OLIVEIRA, J. J. *Perfis de Virulência e Resistência de Salmonella entérica Isolados em Pescado*. 2019. 65f. Universidade Federal de Goiás. Ciência Animal (Tese). 2019.

PANDINI, J. A.; PINTO, F. G. S.; MULLER, J. M.; WEBER, L. D.; MOURA, A. C. Ocorrência e Perfil de Resistência Antimicrobiana de Sorotipos de *Salmonella* spp. Isolados de Aviários do Paraná, Brasil. *Revista Arquivos do Instituto Biológico*. V. 10, p. 1-6, 2014.

SANJEE, S.A.; KARIM, M.E. Microbiological Quality Assessment of Frozen Fish and Fish Processing Materials from Banglades. *International Journal of Food Science*. 2016.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; GOMES, R. A. R. OKAZAKI, M. M. *Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água*. 5ª ed. 535 p. São Paulo: Ed. Blucher, 2017.

WHO, World Health Organization. Estimates of the Global Burden of Foodborne Diseases: Foodborne Disease Burden. Epidemiology Reference Group 2007-2015. *World Health Organizatin WHO*, p. 268, 2015.