
TEZA DE DOCTORAT

**Evaluări de risc privind
contaminarea cărnii de pasăre
cu germeni din speciile
Salmonella și *Campylobacter***

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Doctorand **Forgaciu Anca Firuța**

Conducător de doctorat **Prof. univ. dr. Marian Mihaiu**



INTRODUCERE

Introducerea substanțelor medicamentoase antimicrobiene în terapie a revoluționat medicina, însă utilizarea lor exagerată sau eronată a condus la dezvoltarea și răspândirea rezistenței microbiene, o problemă globală majoră de sănătate publică. În producția animală modernă, antimicrobienele sunt utilizate pe scară largă atât pentru tratamente curative și profilactice, cât și pentru promovarea creșterii, expunând frecvent animalele la antibiotice. Acest lucru creează condiții propice pentru emergența, persistența și răspândirea bacteriilor rezistente, care pot determina apariția de infecții umane prin intermediul alimentelor de origine animală. Bacteriile zoonotice rezistente pot de asemenea transfera gene de rezistență altor bacterii comensale sau patogene.

Salmonella spp. și *Campylobacter* spp. sunt principalele cauze de gastroenterită și bacteriemiei la nivel mondial, iar infecțiile cu aceste bacterii sunt printre cele mai frecvente boli transmise prin alimente în Europa. În ciuda importanței lor, cunoștințele epidemiologice despre *Campylobacter* spp. sunt încă în dezvoltare.

Organizația Mondială a Sănătății (OMS) subliniază necesitatea unui sistem național integrat de supraveghere a consumului de antibiotice și a rezistenței bacteriilor zoonotice pentru monitorizarea și controlul tiparelor de rezistență emergente, protejând astfel sănătatea publică. Acest sistem ar trebui să includă monitorizarea rezistenței la tulpinile de *Salmonella* și *Escherichia coli* din carne, carnea fiind o cale majoră de expunere umană la bacterii rezistente. De asemenea, OMS încurajează cercetările epidemiologice pentru a înțelege mecanismele de dezvoltare și transfer al rezistenței în lanțul alimentar.

În România, nu există încă un sistem național de supraveghere a rezistenței antimicrobiene, iar datele despre prevalența bacteriilor rezistente zoonotice în alimentele de origine animală sunt foarte limitate. În acest context, principalul obiectiv al acestei cercetări a fost evaluarea contaminării cărnii de pasăre cu germeni din speciile *Salmonella* și *Campylobacter*, testarea susceptibilității acestor bacterii la antimicrobiene și identificarea genelor de rezistență microbială.

STRUCTURA TEZEI

Teza de doctorat intitulată " ***Evaluări de risc privind contaminarea cărnii de pasăre cu germeni din speciile Salmonella și Campylobacter*** " este alcătuită din 94 de pagini și prezintă o iconografie ce însumează un număr de 19 figuri și 7 tabele. Aceasta este structurată în două părți și este realizată în conformitate cu normele de redactare ale IOSUD USAMV-Cluj-Napoca.

Prima parte a tezei cuprinde 24 de pagini și este structurată în 4 capitole.

Capitolul 1, intitulat " *Producția de carne de pasăre: impactul economic la nivel global și național, comerțul internațional și piața românească*", prezintă informații despre impactul economic al aviculturii, despre aspecte asociate producției globale de carne de pasăre, cât și asociate specificul producției de pui crescuți în societățile avicole românești. De asemenea, primul capitol furnizează date statistice cu privire la importul și exportul cărnii de pasăre în diverse state. **Capitolul 2**- "*Boli zoonotice transmise prin alimente*" cuprinde informații generale cu privire la principalele bacterioze identificate la nivel global și anume cele cauzate de bacterii din genul *Salmonella* și *Campylobacter*, precum și date referitoare la incidența umană a salmonelozei și campilobacteriozei. **Capitolul 3**- "*Rezistența microbiană*" furnizează date cu privire la tipurile de rezistență microbiană, precum și referitoare la mecanisme de rezistență microbiană și impactul acesteia la nivel global, în timp ce **capitolul 4**- "*Rezistența microbiană-implicații privind siguranța alimentelor*" analizează problematica rezistenței microbiene din perspectiva siguranței alimentare și subliniază implicațiile importante ale acesteia privind atât sănătatea animală cât și umană.

Partea a doua a tezei este structurată în 6 capitole, întinzându-se pe 50 de pagini și cuprinde date despre ipoteza de lucru și obiectivele urmărite, materialele și metodele folosite, precum și rezultatele, discuțiile și concluziile aferente fiecărui din cele 3 studii prezentate. Teza de doctorat se încheie cu capitolele referitoare la concluziile generale și aspectele de originalitate și contribuții inovative.

OBIECTIVELE LUCRĂRII

Prezenta teză de doctorat a avut ca și obiectiv general evaluarea contaminării cărnii de pasăre cu germeni din speciile *Salmonella* și *Campylobacter*. În acest scop, au fost formulate trei obiective specifice, prezentate mai jos:

- I. **Evaluarea riscului privind contaminarea cărnii de pasăre cu tulpini de *Salmonella* spp. izolate în cadrul unei unități de abatorizare de capacitate mare**
- II. **Evaluarea prevalenței și antibioretistenței unor tulpini patogene de *Salmonella* izolate din produse din carne de pasăre**
- III. **Evaluarea prevalenței și antibioretistenței unor tulpini de *Campylobacter jejuni* izolate din conținut cecal provenit de la pui abatorizați**

Studiul 1. Evaluarea riscului privind contaminarea cărnii de pasăre cu tulpini de *salmonella* spp. izolate în cadrul unei unități de abatorizare de capacitate mare

Introducere

Carnea de pasăre este un aliment popular atât la nivel național, cât și internațional, fiind pe locul doi în preferințele consumatorilor din Uniunea Europeană. Este considerată un aliment funcțional datorită aportului său important de substanțe nutritive benefice pentru sănătatea umană. Cu toate acestea, bacteriile din genul *Salmonella* reprezintă un important patogen alimentar, cauzând numeroase infecții umane asociate consumului de alimente contaminate, inclusiv carne de pasăre.

Salmoneloza umană este una dintre cele mai frecvente zoonoze raportate la nivel european, majoritatea infecțiilor fiind de origine alimentară. Infecțiile cu *Salmonella* pot varia în severitate și sunt influențate de numeroși factori, inclusiv serovarul implicat și statusul imunitar al pacienților. Datele statistice indică o prevalență semnificativă a infecțiilor cu tulpini de *Salmonella* asociate consumului de carne de pasăre.

Contaminarea carcaselor cu *Salmonella* spp. poate avea loc în diverse etape ale procesării cărnii, supravegherea rezistenței bacteriene la antimicrobiene în rândul bacteriilor zoonotice fiind esențială pentru gestionarea riscurilor de sănătate publică și pentru dezvoltarea de măsuri adecvate de control și prevenție.

Scopul studiului

Scopul acestui studiu a fost de a izola și identifica germeni din genul *Salmonella* în probe provenite din carne de pasăre, recoltate într-un abator de capacitate mare, prin realizarea unei inspecții ante-mortem a puilor broiler, respectiv post-mortem a carcaselor, urmate de o analiză bacteriologică.

Materiale și metode

Studiul a inclus un număr de 403 probe, recoltate în cadrul unei unități de abatorizare de capacitate mare, cu 2 linii de sacrificare.

Inspecția ante-mortem a puilor broiler și cea post-mortem a carcaselor de pui au fost realizate în două loturi, conform normelor în vigoare.

Izolarea și identificarea tulpinilor de *Salmonella* a fost realizată cu ajutorul analizatorului automatizat VIDAS® bioMérieux, conform protocolului indicat de către producător.

Rezultate și discuții

Toate cerințele privind inspecția ante-mortem efectuată au fost conforme, inclusiv cu rezultate negative la testare în direcția salmonelozelor.

În ceea ce privește examinarea post-mortem, un număr de 505 carcase aparținând primului lot au prezentat diverse leziuni, printre care: vânătăi/fracturi (14.25%), viscere contaminate (11.48%), ascită/edem (10.49%), celulită (20.30%), tumori (2.57%), peritonită/perihepatită (4.75%), pericardită (3.36%), suprasolicitare (0.19%), hepatită (10.69%), dermatită (1.38%), slabă deplumare (0.79%), moarte înainte de sacrificare (0.39%), moarte la sosire (2.57%), contaminare (2.97%), febră (4.75%).

În cazul lotului 2, în cazul a 503 carcase s-au identificat leziuni, precum: vânătăi/fracturi (6.75%), viscere contaminate (28.23%), ascită/edem (10.93%), celulită (14.91%), tumori (1.39%), peritonită/perihepatită (4.57%), pericardită (0.39%), suprasolicitare (2.98%), hepatită (3.57%), dermatită (0.79%), slabă deplumare (1.98%), moarte înainte de sacrificare (0.99%), moarte la sosire (3.77%), contaminare (10.93%), febră (7.75%).

Din cele 403 probe analizate în vederea evaluării contaminării cărnii de pasăre cu germeni din genul *Salmonella*, 397 au fost conforme și 6 probe neconforme, ca urmare a identificării *Salmonella infantis*, indicând un grad de contaminare de 1.49%.

Nivelul de contaminare al cărnii de pasăre cu germeni din genul *Salmonella* poate fi influențat de o serie de factori, precum transportul animalelor de la fermă la unitatea de abatorizare, incluzând durata transportului, precum și procesele de sacrificare, respectarea normelor privind procedurile de spălare, imersie sau răcire fiind în acest context un aspect foarte important, care poate reduce semnificativ contaminarea.

Prezența *Salmonella spp.* la nivelul carcaselor identificată în cadrul studiului de față nu a fost asociată cu anumite leziuni specifice identificate în urma examenului post-mortem, prin urmare nu s-a putut realiza o corelare directă între acestea.

Concluzii

Studiul de față a urmărit realizarea unei inspecții ante-mortem a puilor broiler, respectiv post-mortem a carcaselor, urmată de o analiză bacteriologică. Examenul ante-mortem efectuat a vizat controlul documentelor și certificarea negativă la examenul bacteriologic în direcția salmonelozelor, precum și evaluarea condițiilor de sănătate și bunăstare a păsărilor supuse ulterior sacrificării. Rezultate obținute în acest sens au fost conforme cu legislația specifică.

Examenul post-mortem realizat pe ambele loturi incluse în studiu a pus în evidență următoarele tipuri de leziuni: vânătăi/fracturi, viscere contaminate, ascită/edem, celulită, tumori, peritonită/perihepatită, pericardită, suprasolicitare, hepatită, dermatită, slabă deplumare, moarte înainte de sacrificare, moarte la sosire,

contaminare, stare febrilă.

Supravegherea cărnii de pasăre în privința contaminării cu germeni din genul *Salmonella* prin recoltare de probe reprezentative de la nivelul pielii din regiunea gâtului la lotul 1 a pus în evidență 6 probe neconforme din totalul de 403 probe (grad de contaminare de 1.49%).

O mai bună colaborare între autoritățile implicate în prevenția și controlul bolilor zoonotice și operatorii economici care operează la nivelul lanțului alimentar, este în mod special recomandată.

Studiul 2 – Studiu privind prevalența și antibioretistența unor tulpini patogene de *Salmonella* izolate din produse din carne de pasăre

Introducere

Bacteriile din genul *Salmonella* sunt printre cei mai importanți patogeni alimentari, cauzând frecvente zoonoze la nivel global și reprezentând o problemă semnificativă de sănătate publică. Infecția cu *Salmonella* spp. se manifestă adesea sub forma de gastroenterită, cauzată de numeroase serovaruri non-tifoide. Aceste infecții sunt predominant asociate consumului de alimente contaminate, cum ar fi carnea, ouăle, laptele și produsele lactate.

Carnea de pasăre este un aliment frecvent implicat în contaminarea cu tulpini de *Salmonella*, justificând implementarea unui sistem de supraveghere în unitățile de abatorizare.

Rezistența la antimicrobiene este o problemă emergentă, limitând opțiunile terapeutice pentru salmonelozele umane. Utilizarea excesivă a agenților antimicrobieni în producția animală și terapia umană a favorizat apariția și răspândirea de bacterii rezistente, numeroase tulpini de *Salmonella* prezentând rezistență la multiple clase de agenți antimicrobieni, ceea ce favorizează apariția unor infecții mai severe, eșecuri terapeutice și costuri semnificative pentru societate.

Supravegherea rezistenței bacteriene este esențială pentru monitorizarea fenomenului și pentru dezvoltarea de strategii adecvate de control.

Scopul studiului

Scopul acestui studiu a fost de a identifica prevalența unor tulpini de *Salmonella* în produse din carne de pasăre, susceptibilitatea acestora la antimicrobiene, precum și de a identifica și evalua prezența unor gene de rezistență în rândul tulpinilor izolate.

Materiale și metode

Studiul a inclus un număr de 112 tulpini de *Salmonella* izolate din probe de carne de pui și produse din carne de pui recoltate în intervalul 2011-2021, pe teritoriul României.

Izolarea *Salmonella* spp. din probele de carne s-a realizat conform protocolului standardizat SR EN ISO 6579/2003/AC/2017, în timp ce stabilirea profilului de sensibilitate la substanțele cu acțiune antimicrobiană testate, s-a realizat prin metoda difuzimetrică, conform ghidurilor CLSI, utilizând biodiscuri impregnate cu diferite cantități de substanță activă.

Confirmarea tulpinilor de *Salmonella* spp. identificate, respectiv identificarea prezenței unor gene de rezistență a fost realizată prin aplicarea metodei moleculare PCR (reacția în lanț a polimerazei).

Rezultatele obținute au fost ulterior interpretate statistic, utilizând teste specifice.

Rezultate și discuții

Din totalul tulpinilor de *Salmonella* incluse în studiu (n=112), izolate în intervalul 2011-2021, 56% s-au dovedit a fi pozitive pentru *Salmonella* Enteritidis (*S. Enteritidis* (n=63), în timp ce 25% au fost pozitive pentru *Salmonella* Thyphimurium (*S. Thyphimurium*) (n=28).

Pe baza rezultatele testării susceptibilității la antimicrobiene a tulpinilor patogene de *Salmonella* incluse în studiu (n=91), s-a evidențiat o creștere a nivelului de rezistență pe parcursul anilor 2011-2021.

Dintre cele 91 de tulpini de *Salmonella* testate, 78 s-au dovedit a fi MDR. S-au evidențiat de asemenea nivele ridicate de rezistență față de antibiotice precum tetraciclină (74%), sulfonamide (54%) sau ampicilină (32%).

Marea majoritate a izolatelor s-au dovedit a fi susceptibile față de cefalosporine și quinolone, doar 8%, respectiv 4% prezentând rezistență față de aceste 2 clase de agenți antimicrobieni.

Prevalența tulpinilor de *Salmonella* patogene MDR a prezentat un trend crescător în intervalul 2015-2021 (n=34), comparativ cu perioada 2011-2014 (n=28).

Prevalența genelor de rezistență a fost strâns corelată cu tiparele de rezistență. Cele mai prevalente gene de rezistență identificate în cadrul studiului au fost genele codificatoare de rezistență la tetraciclină, respectiv *tetA*, *tetB* și *tetC* (n=79%), precum și genele codificatoare ale rezistenței față de sulfonamide (*sul1*, *sul2*) (n=85).

Conform rezultatelor studiului de față, s-au izolat tulpini de *Salmonella* din carne și produse din carne de pasăre în fiecare an din timpul perioadei de 10 ani inclusă în evaluare.

Cel mai prevalent serovar identificat în cadrul studiului a fost reprezentat de către *S. Enteritidis* (n=56%), rezultatul obținut fiind similar cu datele raportate în alte studii asemănătoare.

De asemenea în studiul de față s-au identificate nivele crescute de rezistență la agenți antimicrobieni frecvent utilizați în producția avicolă, precum tetraciclina (84%), acidul nalidixic (78%) sau ampicilina (78%). Aceste rezultate sunt în concordanță cu cele raportate în alte studii similare.

În ceea ce privește prezența genelor de rezistență în rândul tulpinilor analizate, gena *sul1* (93.4%) a fost cea mai des izolată, urmată de genele *tet* (86.8%) și *blaTEM* (64%). Patru tulpini au fost purtătoare ale genei *cat1*, genă responsabilă de rezistența la cloramfenicol, un tip de rezistență mai rar raportată în cadrul studiilor realizate în domeniu. În ansamblu, prevalența genelor de rezistență a fost corelată cu caracteristicile fenotipice ale izolatelor.

Tiparele de rezistență identificate au fost diferite în cele 2 intervale de timp analizate (2011-2015, respectiv 2016-2021), acest aspect putând fi influențat de o modificare a protocolului terapeutic de-a lungul timpului.

Concluzii

Studiul de față este unul dintre cele mai comprehensive studii privind prevalența și antibioretistența unor tulpini patogene de *Salmonella* izolate din carne și produse din carne de pasăre realizate în țara noastră. Rezultatele obținute au indicat nivele ridicate de rezistență față de tetraciclină, acid nalidixic, ampicilină și streptomycină. Prin urmare, se recomandă o administrare mai judicioasă a acestor compuși în terapia infecțiilor cu *Salmonella* spp.

Studiul 3. Studiu privind prevalența și antibioretistența unor tulpini de *Campylobacter jejuni* izolate din conținut cecal provenit de la pui abatorizați

Introducere

Infecția cu *Campylobacter* spp. este una dintre cele mai frecvente cauze bacteriene ale gastroenteritei umane la nivel mondial, dar studiile epidemiologice sunt încă în desfășurare. Majoritatea infecțiilor apar sporadic, fără o sursă evidentă, și pot duce la complicații severe, cum ar fi sindromul Guillain-Barre. Păsările de curte și produsele lor sunt principalele vehicule de infecție.

Sacrificarea industrializată a păsărilor prezintă riscuri considerabile de contaminare bacteriană, însă reducerea încărcăturii bacteriene la nivelul carcaselor ar putea reduce semnificativ cazurile de campilobacterioză umană.

O dată cu monitorizarea necesară a *Salmonella* spp. și a introducerii planificate a *Campylobacter jejuni* pentru criterii de igienă a proceselor pentru puii de carne

sacrificați în Uniunea Europeană (UE), sunt necesare date microbiologice pentru punerea în aplicare a măsurilor adecvate în procesul de sacrificare

Scopul studiului

Scopul acestui studiu a fost de a identifica prevalența unor tulpini de *Campylobacter jejuni* în probe de conținut cecal provenit de păsări, precum și de a evalua susceptibilitatea acestora la antimicrobiene.

Materiale și metode

Studiul a fost realizat pe un număr de 147 de probe de conținut cecal recoltat de la pui abatorizați proveniți din abatoare de păsări din județele Cluj, Maramureș și Satu-Mare, în anul 2022.

După izolarea *Campylobacter jejuni* conform protocolului standard, s-a testat susceptibilitatea la antimicrobiene prin metoda microdiluției în plăci cu microgodeuri.

Rezultate și discuții

Din totalul probelor incluse în studiu (n=147), 61 (41.49%) s-au dovedit a fi pozitive pentru *Campylobacter jejuni*.

Pe baza rezultatele testării susceptibilității la antimicrobiene a tulpinilor de *Campylobacter jejuni* izolate, s-a evidențiat faptul că număr de 42 de tulpini (68.85%) s-au dovedit a fi rezistente la ciprofloxacina, în timp ce 24 de tulpini (39.34%) au manifestat rezistență față de tetraciclina. De asemenea, un număr semnificativ de tulpini au fost rezistente la acid nalidixic (40; 65.57%).

În cadrul studiului de față s-a identificat o prevalență mai redusă a rezistenței la gentamicină și respectiv, streptomycină. Toate tulpinile au fost susceptibile la eritromicină.

Toxiinfecția alimentară produsă de *Campylobacter jejuni*, frecvent raportată la nivel mondial, se poate datora și unor greșeli produse pe fluxul tehnologic al păsărilor destinate consumului uman.

În cadrul studiului de față, 41.49% din probele recoltate s-au dovedit a fi pozitive pentru *Campylobacter jejuni*, rezultatele fiind similare cu cele raportate în alte state.

În ceea ce privește susceptibilitatea antimicrobiană, rezultatele obținute au indicat un nivel ridicat de rezistență față de ciprofloxacina (68.75%) și acid nalidixic (65.57%), dar și față de tetraciclina (39.34%). Nici una dintre tulpinile izolate nu a prezentat rezistență față de eritromicină și doar un procent scăzut al izolatelor s-au dovedit a fi rezistente la streptomycină (8.2%) și gentamicină (1.64%).

Concluzii

Prevalența crescută a unor tulpini de *Campylobacter jejuni* rezistente la antimicrobiene este recunoscută ca fiind o problemă de sănătate publică atât umană, cât și veterinară. Medicul veterinar trebuie să asigure sănătatea animalelor și să contribuie la diminuarea sau chiar evitarea producerii de erori pe fluxurile de abatorizare ale animalelor destinate consumului uman, pentru a nu afecta în mod negativ sănătatea populației.

În contextul rezultatelor obținute în cadrul studiului de față, se recomandă o îmbunătățire a examenelor de laborator privind *Campylobacter jejuni* înainte ca produsele din carne de pasăre să fie date în consum, dar și o îmbunătățire a cunoștințelor consumatorilor privind prepararea cărnii de pasăre.

CONCLUZII GENERALE

- Evaluarea și supravegherea contaminării cu *Salmonella spp.* reprezintă un element important în prevenția salmonelozelor, iar o mai bună colaborare între autoritățile implicate în prevenția și controlul bolilor zoonotice și operatorii economici care operează la nivelul lanțului alimentar, este în mod special recomandată.
- Rezultatele obținute în cadrul celui de-al doilea studiu realizat au indicat nivele ridicate de rezistență a tulpinilor de *Salmonella* izolate față de tetraciclină, acid nalidixic, ampicilină și streptomycină, precum și prezența unor gene de rezistență asociate, context în care se recomandă o administrare mai judicioasă a compușilor mai sus menționați în terapia infecțiilor cu *Salmonella spp.*
- Rezultatele indicate în cel de-al treilea studiu au indicat o prevalență ridicată a *Campylobacter jejuni* în probe de conținut fecal și un nivel ridicat de rezistență față de ciprofloxacina, acid nalidixic și tetraciclină.
- Pe baza rezultatelor și concluziilor prezentate, se recomandă o colaborare mai strânsă între autoritățile de reglementare și operatorii din industria alimentară pentru a îmbunătăți controlul salmonelozelor și campilobacteriozelor la nivelul lanțului alimentar, precum și o utilizare mai rațională a antibioticelor, mai ales a celor în cazul cărora s-au identificat nivele de rezistență ridicate în studiile realizate, pentru a reduce presiunea de selecție asupra bacteriilor patogene.

ORIGINALITATEA ȘI CONTRIBUȚIILE INOVATIVE ALE TEZEI

La nivel internațional, teza contribuie la îmbogățirea cunoștințelor în domeniu, prin publicații realizate (atât ISI cât și BDI) referitoare la prevalența și antibioretistența

germenilor din speciile *Salmonella* și *Campylobacter* în conținut fecal, carne și produse din carne de pasăre, cât și referitoare la mecanismele de dezvoltare a rezistenței și la rolul potențial al alimentelor de origine animală în diseminarea tulpinilor bacteriene multirezistente.

Studiile incluse în teza de doctorat furnizează date noi și de actualitate cu privire la prezența unor bacterii rezistente în alimentele de origine animală, cu privire la diferitele tipare de rezistență asociate, precum și referitoare la prezența și diseminarea unor gene de rezistență pe lanț alimentar.

De asemenea, teza cuprinde unul dintre cele mai comprehensive studii privind prevalența și antibiorezistența unor tulpini patogene de *Salmonella* izolate din carne și produse din carne de pasăre realizate în țara noastră.

Studiile realizate aduc un aport în înțelegerea mecanismelor de rezistență precum și a dinamicii transmisibilității acestora pe lanț alimentar, iar publicațiile rezultate contribuie la creșterea vizibilității internaționale a cercetării realizate, cu posibilitatea de transfer a rezultatelor obținute în practica medicală și socio-economică, în scopul protejării sănătății publice și creșterii calității vieții.