

UFRRJ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

DISSERTAÇÃO

**Alimentos de origem suína como fonte para
veiculação de *Salmonella* spp. resistentes aos
antimicrobianos**

Aloizio Lemos de Lima

2011



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS**

**ALIMENTOS DE ORIGEM SUÍNA COMO FONTE PARA
VEICULAÇÃO DE *SALMONELLA* SPP. RESISTENTES AOS
ANTIMICROBIANOS**

ALOIZIO LEMOS DE LIMA

Sob a Orientação da Professora
Norma dos Santos Lázaro

e Co-orientação da Professora
Dália dos Prazeres Rodrigues

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência e Tecnologias de Alimentos**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Seropédica, RJ
Março de 2011

641.306

L732a

T

Lima, Aloizio Lemos de, 1980-

Alimentos de origem suína como fonte para veiculação de *Salmonella* spp. resistentes aos antimicrobianos / Aloizio Lemos de Lima - 2011.

56 f.; il.

Orientador: Norma dos Santos Lázaro.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos.

Bibliografia: f. 42-52

1. Alimentos de origem animal - Teses.
2. Carne de porco - Microbiologia - Teses.
3. Salmonela - Teses. I. Lázaro, Norma dos Santos, 1949. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

ALOIZIO LEMOS DE LIMA

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência e Tecnologias de Alimentos**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, área de concentração em Ciência e Tecnologia de alimentos.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM __/__/____

Norma dos Santos Lázaro. Dr. UFRRJ
(Orientadora)

Maria da Conceição Estellita Vianni. Dr. UFRRJ

Ingrid Annes Pereira. Dr. FIOCRUZ

Pedro Paulo de Oliveira Silva. Dr. UFRRJ (Suplente)

DEDICATÓRIA

Tudo o que eu tenho, tudo o que eu sou, foi me dado por Deus. A Ele, acima de tudo e de todos dedico este trabalho e também minha vida. Dedico este trabalho também a minha esposa Tatianne, meu filho Gabriel, meus pais Aloizio e Lourdes e minha tia Sueli.

AGRADECIMENTOS

Meu primeiro agradecimento é dedicado a DEUS, que durante toda minha vida, das mais variadas formas, mesmo que às vezes eu não compreenda, tem atuado de forma a moldar e aperfeiçoar meu caráter; por conhecer minhas necessidades melhor do que eu mesmo e supri-las de forma maravilhosa; pela Salvação em JESUS CRISTO, pelo Perdão, pela Vida...

À UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO, por ter sido cenário de momentos marcantes em minha vida, pela minha graduação e pós-graduação, pela sua beleza, por ser única...

À FIOCRUZ, em especial ao Laboratório de Enterobactérias, por proporcionar meios para execução deste trabalho.

À CAPES pelo apoio financeiro.

À professora ARLENE (RURAL) pelos ensinamentos, por sua postura profissional, pelo carinho dedicado a pós-graduação e por suas valiosas contribuições no aperfeiçoamento dos futuros mestres e doutores deste país.

À RENATA (FIOCRUZ), por toda ajuda e paciência no começo do meu trabalho no Laboratório. E também pela amizade que surgiu e pela alegria de trabalhar ao lado uma pessoa tão divertida e verdadeira.

A todos os FUNCIONÁRIOS E ESTAGIÁRIOS do Laboratório de Enterobactérias pelas dicas e pela colaboração.

Aos PROFESSORES do curso de pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, pelos conhecimentos transmitidos.

À BANCA EXAMINADORA, por aceitarem o convite e pelas importantes sugestões.

Aos meus AMIGOS da PÓS-GRADUAÇÃO, pela amizade e companheirismo.

À minha co-orientadora DÁLIA por compartilhar um pouco do seu vasto conhecimento, que sem dúvida foi fundamental para minha jornada neste trabalho; pelo seu apoio, orientação, sugestões e “papos” super agradáveis na hora do almoço.

E finalmente, com especial carinho, à minha orientadora **NORMA DOS SANTOS LÁZARO**, por ter me acolhido como orientado, pela atenção e dedicação, pelo conhecimento transferido, pela agradável convivência e pelo apoio incondicional durante este trabalho. A minha gratidão a esta professora que foi peça chave na minha formação. Obrigado, e mais uma vez, muito obrigado!

RESUMO

Lima, Aloizio Lemos. **Alimentos de origem suína como fonte para veiculação de *Salmonella* spp. resistentes aos antimicrobianos.** 2011. 56p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2011.

Sabe-se que a principal via de transmissão de *Salmonella* zoonótica está na cadeia alimentar, e os altos índices relatados, sobretudo associados a produtos de origem animal, apontam este microrganismo como um dos mais incidentes e relevantes agentes etiológicos de enteroinfecções. Aliado a isto, o surgimento acelerado de bactérias antibiótico-resistentes emerge como um dos principais problemas à Saúde Pública, sendo considerado um dos maiores desafios da medicina na atualidade. Esta situação é ainda mais complexa, sobretudo porque os genes que codificam a resistência aos antibióticos se encontram frequentemente em pequenos segmentos de DNA extra cromossômicos, que podem ser transferidos diretamente entre bactérias, mesmo de espécies e gêneros diferentes. Considerando a relevância da suinocultura e seu implemento, os suínos em seu sistema de criação merecem relevante atenção. Assim o presente estudo teve por objetivo analisar a ocorrência e distribuição dos sorovares circulantes de *Salmonella* em produtos de origem suína, de diferentes regiões do país, apontando tendências quanto à emergência destes na veiculação de resistência aos antimicrobianos, informações que em seu conjunto visam ofertar subsídios que podem ser empregados nas atividades para o seu controle em nosso meio. Foram analisadas 1824 cepas de *Salmonella* spp. isoladas de alimentos de origem suína, recebidas pelo Laboratório de Enterobactérias – IOC / FIOCRUZ para caracterização antigênica conclusiva, provenientes de diversas regiões do país. Após confirmação bioquímica e antigênica, a susceptibilidade aos antimicrobianos foi determinada por disco difusão, seguindo as recomendações preconizadas pelo CLSI. No cômputo geral, entre as 1824 cepas foram identificados 41 sorovares pertencentes à *Salmonella enterica* subespécie *enterica* (1822 cepas) e 2 cepas de *Salmonella enterica* subespécie *houtenae*. Entre os 13 sorovares mais frequentes destacam-se *S.* Typhimurium (26,48%), Derby (15,84%), Enteritidis (8,83%), Panama (6,96%), Infantis (6,80%) e Anatum (6,14%), por sua frequência nos cinco anos de estudo. A variedade de sorovares identificados nos alimentos de origem suína evidenciou que esta espécie animal é mais uma fonte de infecção e veiculador, através de seus produtos, de salmonelas zoonóticas. O teste de suscetibilidade aos antimicrobianos foi realizado em 357 (19,57%) amostras, 257 (71,99%) foram resistentes a uma ou mais drogas, destas 59,53% multirresistentes. Considerando-se unicamente as cepas resistentes, observou-se que a maior taxa recaiu sobre TCY (42,82%), seguido de NIT (39,50%), NAL (25,21%), AMP (17,70%), SXT (11,55%), CHL (9,58%), GEN (6,44%) e CEP (2,82%). Os elevados percentuais de resistência aos antimicrobianos obtidos na presente avaliação conduzem para uma reflexão sobre o uso indiscriminado de antimicrobianos na medicina humana e veterinária, reforçando a necessidade de monitoramento contínuo para que sejam planejadas ações preventivas e reguladoras junto aos Órgãos competentes.

Palavras-chaves: *Salmonella*, resistência antimicrobiana, suínos.

ABSTRACT

Lima, Aloizio Lemos. **Food as a source of pork for delivery of antimicrobial resistant *Salmonella* spp.** 2011. 56p. Dissertation (Master of Science and Food Technology). Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2011.

It is known that main route of zoonotic *Salmonella* transmission has been present on the food chain; reported high rates, especially those ones from animal products have pointed out this sort of microorganism as one of the most relevant and occasional etiological agents on enteric infections. Additionally, accelerated the emergence of antibiotic resistant bacteria emerges as a major public health question, one of the great public health question, one of the greatest challenges in Medicine, at the current days. This situation has been even more complex, especially on account of the genes encoding resistance to antibiotics have often been in small segments of extra chromossomic DNA, which ones can directly be transferred among bacteria, even from different species and genera. Taking in to account the importance of swine farming and its implement, pig raising might deserve meaningful attention, at all. Therefore, this study aims to analyze the occurrence and distribution of *Salmonella* serovars on swine products from different regions of the country, pointing to the emergence of these trends on the transmission of antimicrobial resistance, such information also offer subsidies that could be employed on the activities for its management in our country. We analyzed 1824 *Salmonella* spp strains isolated from swine food, at the Laboratory of Enterobacteria – IOC / FIOCRUZ for final antigenic characterization from several Brazilian regions. After biochemical and antigenic corroborations, antimicrobial susceptibility by disc diffusion was determined according CLSI recommendations. Overall, among 1824 strains, 41 *Salmonella enterica* subspecies *enterica* (1822 strains) serovars and 2 *Salmonella enterica* subspecies *houtenae* strains were identified. Among the 13 most common serotypes: *S. typhimurium* (26,48%), Derby (15,84%), Enteritidis (8,83%), Panama (6,96%), Infantis (6,80%) and Anatum (6,14%) have stand out for five years of survey. The variety of serovars identified on swine food has showed that this species has been more a source of zoonotic salmonelas infection and dissemination, through its products. The antimicrobial susceptibility test was performed in 357 (19,57%) samples, 257 (71,99%) were resistant to one or more drugs, 59,53% of these multiresistant. In view of just resistant strains, highest rates reverted to TCY (42,82%) followed by NIT (39,50%), NAL (25,28%), AMP (17,70%), SXT (11,55%), CHL (9,58%), GEN (6,44%) and CEP (2,82%) were observed. The high rates of antimicrobial resistance obtained from this evaluation guides to a reflection over the indiscriminate use of antimicrobial drugs as well as on medicine and veterinary reinforcing the demand for continuous monitoring diming preventive and regulatory procedures by governmental authorities.

Keywords: *Salmonella*, antimicrobial resistance, pigs.

LISTA DE TABELAS, QUADROS E FIGURAS

- TABELA 1 - Distribuição dos 2579 sorovares de *Salmonella* de acordo com espécie e subespécie.....Pag 05
- TABELA 2 - Frequência de isolamento de *Salmonella* spp em alimentos de origem suína, por região geográfica do Brasil, no período de janeiro de 2005 a junho de 2010.Pag 27
- TABELA 3 – Frequência de isolamento de *Salmonella* spp., em alimentos de origem suína, de acordo com a fonte e ano de isolamentoPag 28
- TABELA 4 – Ocorrência e distribuição dos sorovares mais frequentes de *Salmonella* isolados de alimentos de origem suína, no período de (janeiro de 2005 a junho de 2010).Pag 28
- TABELA 5 - Distribuição das cepas de *Salmonella* spp. isoladas de produtos de origem suína no período de janeiro de 2005 a junho de 2010, selecionadas para o teste de susceptibilidade aos antimicrobianos (TSA)..... Pag 32
- TABELA 6 - Distribuição das cepas de *Salmonella* spp. de acordo com a resistência a diferentes classes de antimicrobianos no período de janeiro de 2005 a junho de 2010.Pag 33
- TABELA 7 - Frequência da suscetibilidade dos sorovares mais frequentes de *Salmonella* de acordo com o número de classes de antimicrobianos.....Pag 34
- TABELA 8 - Comportamento dos seis sorovares mais frequentes de *Salmonella* frente a diferentes drogas antimicrobianas no período de janeiro de 2005 a junho de 2010.Pag 36
- TABELA 9 - Frequência e distribuição dos marcos de resistência nas 357 cepas *Salmonella* spp. provenientes de alimentos de origem suína, analisados no período de janeiro de 2005 a junho de 2010.....Pag 39
- TABELA 10 - Comparação dos fenótipos de resistência em 18 cepas submetidas a repetição do Teste de suscetibilidade aos antimicrobianos. Pag 41
-
- Quadro 1 - Discriminação dos produtos de origem suína de acordo com as categorias analisadas..... Pag 22
- Quadro 2 - Perfil bioquímico de *Salmonella enterica* subsp. *Enterica*..... Pag 23
- Quadro 3 - Drogas utilizadas para Avaliação da Suscetibilidade Antimicrobiana.Pag 25
- Quadro 4 - Padrão de interpretação do Teste de Suscetibilidade aos Antimicrobianos (Difusão por discos). Pag 25

Gráfico 1– Frequência (%) dos sorovares de <i>Salmonella</i> oriundos de alimentos de origem suína, no período de janeiro de 2005 a junho de 2010.	Pag 29
Gráfico 2 – Percentual de distribuição anual dos cinco sorovares mais frequentes de <i>Salmonella</i> , oriundos de alimentos de origem suína no período de janeiro de 2005 a junho de 2010.	Pag 29
Gráfico 3. Percentuais de cepas de <i>Salmonella</i> spp. resistentes a diferentes classes de antimicrobianos no período de janeiro de 2005 a junho de 2010.	Pag 33
Gráfico 4. Percentual de resistência antimicrobiana nos seis sorovares mais frequentes de <i>Salmonella</i> isolados de alimentos de origem suína no período de (janeiro de 2005 a junho de 2010).	Pag 37
Gráfico 5. Frequência dos marcadores de resistência nas cepas de <i>Salmonella</i> spp. isoladas de alimentos de origem suína, analisados no período de janeiro de 2005 a junho de 2010.	Pag 39

LISTA DE ABREVIACÕES, SIGLAS E SÍMBOLOS

ABIPECS – Associação Brasileira da Indústria Produtora e Exportadora de Carne Suína
ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APCs – Antimicrobianos como promotores de crescimento
CDC – Centers for Disease Control and Prevention
CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute
Embrapa – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FIOCRUZ – Fundação Oswaldo Cruz
IOC – Instituto Oswaldo Cruz
LABENT – Laboratório de Enterobactérias
OMS – Organização Mundial da Saúde
S. – *Salmonella*
S. sor. – *Salmonella* sorovar
WHO – World Health Organization

Antimicrobianos
AMP – Ampicilina
CEP – Cefalotina
CHL – Cloranfenicol
CIP – Ciprofloxacina
CRO – Ceftriaxona
GEN – Gentamicina
IMP – Imipenem
NAL – Ácido Nalidíxico
NIT – Nitrofurantoina
SXT – Sulfametoxazol-Trimetoprim
TCY – Tetraciclina

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1 Gênero <i>Salmonella</i>	2
2.1.1 Características gerais, nomenclatura e classificação	2
2.1.2 Patogênese, tratamento e controle	5
2.1.3 Ecologia e Epidemiologia.....	9
2.1.4 O suíno como fonte de salmonelas zoonóticas.....	11
2.2 Antimicrobianos <i>versus</i> Resistência.....	14
2.2.1 Mecanismos de resistência	15
2.2.2 Uso de antibióticos na produção agropecuária	16
2.2.3 Políticas públicas	17
2.2.4 <i>Salmonella</i> e resistência aos antimicrobianos	18
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	21
3.1 Local e Infra-estrutura de Desenvolvimento do Projeto.....	21
3.2 Amostragem de Estudo.....	21
3.3 Procedimentos Laboratoriais	22
3.3.1 Confirmação da Identificação Bioquímica Sumária.....	22
3.3.2 Caracterização antigênica conclusiva.....	23
3.3.3 Determinação da suscetibilidade aos antimicrobianos	23
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
4.1 Ocorrência de <i>Salmonella</i> em produtos de origem suína	25
4.2 Resistência Antimicrobiana em <i>Salmonella</i>	30
5 CONCLUSÕES	41
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
8 ANEXOS	53

1 INTRODUÇÃO

Alimentos seguros tem sido um tema central de discussões e pesquisas nas últimas décadas. Apesar dos progressos alcançados pela ciência e tecnologia de produção de alimentos, as enfermidades causadas por patógenos de origem alimentar continuam apresentando problemas significativos para a saúde e economia em nível global.

Entre as diferentes etiologias o gênero *Salmonella* assume papel relevante tendo em vista que a salmonelose é uma zoonose de importância mundial e uma das mais freqüentes doenças de origem alimentar. Seus padrões epidemiológicos são de extrema complexidade variam de uma região para outra; isto se deve entre outros, as diferenças nos hábitos alimentares, práticas na elaboração de alimentos e diferenças quanto aos padrões de higiene e saneamento.

Considerando que a principal via de transmissão de *Salmonella* está na cadeia alimentar, os altos índices relatados, sobretudo associados a produtos de origem animal, apontam este microorganismo como um dos mais incidentes e relevantes agentes etiológicos de enteroinfecções.

Existem evidências de que produtos suínos são freqüentemente contaminados com vários sorovares e, conseqüentemente, a presença desse microorganismo tem sido motivo de preocupação. A qualidade na produção de alimentos como um sistema integrado, deve ser observada ao longo de toda a cadeia, desde produção na granja a manipulação das carcaças, até as implicações que este alimento possa trazer ao consumidor. São necessárias avaliações em todos os pontos de modo que forneçam dados cuja análise permita um balizamento nas medidas de controle sanitário e qualidade para esses produtos. Neste contexto, considerando os riscos que *Salmonella* pode causar à Saúde Pública, a Legislação brasileira através da Resolução RDC 12 de 02 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001) estabelece padrões microbiológicos com ausência de *Salmonella* em 25 gramas de carne suína assim como de seus produtos e subprodutos.

Aliado a isto, o surgimento de bactérias antibiótico-resistentes vem emergindo como um dos principais problemas à Saúde Pública, sendo considerado um dos maiores desafios da medicina na atualidade. Esta situação é ainda mais complexa, sobretudo porque os genes que codificam a resistência aos antibióticos se encontram freqüentemente em pequenos segmentos de DNA extra cromossômicos, que podem ser transferidos diretamente entre bactérias, mesmo de espécies e gêneros diferentes.

A problemática questão da resistência antimicrobiana se amplifica porque, se de um lado temos a natureza contribuindo com mecanismos de resistência e transferência de genes extremamente eficientes, do outro o homem tem um papel relevante, por incompreensão ou cobiça econômica, ao utilizar estas drogas de forma inapropriada. Um exemplo disso pode ser observado na prática agropecuária: a descoberta de que os antibióticos promovem de forma eficiente e barata o crescimento animal, levaram à sua utilização de forma indiscriminada.

Considerando a relevância da suinocultura e seu implemento, os suínos em seu sistema de criação merecem relevante atenção. Assim o presente estudo teve por objetivo analisar a ocorrência e distribuição dos sorovares circulantes de *Salmonella* em produtos de origem suína, de diferentes regiões do país, apontando tendências quanto à emergência destes na veiculação de resistência aos antimicrobianos, informações que em seu conjunto visam ofertar subsídios que podem ser empregados nas atividades para o seu controle em nosso meio.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Gênero *Salmonella*

Entre os patógenos que são reconhecidos pela Organização Mundial da Saúde - OMS como os mais significativos por seu impacto a saúde das populações e que podem ser utilizados como indicador da qualidade dos alimentos está incluído o gênero *Salmonella* (OMS, 1988).

A história de *Salmonella* remonta de 1643 quando Thomas Willis descreveu, de uma forma primitiva, a febre tifóide. Em 1718, Junker começou a clarear alguns aspectos sobre a etiologia das febres tifóides e, em 1856, William Budd acreditava que o agente causal era excretado pela urina e fezes e que o leite e a água eram importantes veículos de infecção. Porém, foi em 1880 que Carl Joseph Eberth conseguiu esclarecer a etiologia da febre tifóide observando o bacilo tífico em órgãos de vítimas da Febre Tifóide e pondo fim a todas as outras teorias. Em 1884, Gaffky, isolou o germe em cultura pura. Então a *Salmonella* ficou por muito tempo conhecida como “bacilo de Eberth” (LEDERMANN, 2003, apud BIER, 1985).

O segundo membro do grupo foi isolado por Salmon & Smith (1885) e denominado *Bacillus cholerae suis*, por acreditarem ser o agente causal da Peste Suína. Somente em 1903, Schweintz & Dorset atribuíram a um vírus filtrável a real etiologia da doença, desempenhando a *Salmonella*, o papel de um invasor secundário.

Em 1888, Gartner identificou uma *Salmonella* não tifóide como patógeno humano responsável por um surto de gastroenterite na Alemanha, com um caso fatal, em consequência da ingestão de carne bovina crua; a ele foi dado o nome de *Bacillus enteritidis*.

A designação do gênero *Salmonella* foi adotada em 1900, por Lignières, em homenagem a Daniel Elmer Salmon, médico veterinário e bacteriologista americano do século XIX, que isolou o microrganismo atualmente conhecido como *Salmonella enterica* sorovar Choleraesuis de suínos (KORSAK; CLINQUART; DAUBE, 2004). Desde então, numerosos outros sorovares foram isolados do homem, animais, alimentos, rações, água e outras fontes.

Paralelamente, e acompanhando a evolução econômica, industrial e social da humanidade, as infecções causadas por algumas salmonelas foram caindo de frequência, enquanto por outras, aumentando.

2.1.1 Características gerais, nomenclatura e classificação

O gênero *Salmonella* consiste de bastonetes Gram-negativos medindo em geral 1 a 2µm, são oxidase negativa e catalase positiva, anaeróbios facultativos, apresentando metabolismo fermentativo. São geralmente móveis por meio de flagelos peritríquios, com exceção dos sorovares Pullorum e Gallinarum que são imóveis (FRANCO; LANDGRAF, 2008; D'AOUST; MAURER; BAILEY, 2001). Suas propriedades bioquímicas bem definidas permitem incluí-lo na tribo *Salmonelleae*, família Enterobacteriaceae.

A maioria das cepas produz ácido e gás a partir da fermentação da glicose, com exceção de *S. sor. Typhi*, *S. sor. Pullorum* e *S. sor. Gallinarum* ($\leq 5\%$ produzem gás). Também fermentam arabinose, maltose, manitol, manose, ramnose, sorbitol, trealose, xilose e dulcitol (EWING, 1986; COSTA; HOFER, 1972). A maioria das salmonelas de interesse clínico não fermenta lactose, contudo, muitas cepas podem adquirir essa característica por

meio de transferência plasmidial (FERREIRA; CAMPOS, 2008). São oxidase negativas, catalase positivo, indol, Voges-Proskauer – (VP), Vermelho de Metila – (VM), malonato e ureia negativos. Produzem gás sulfídrico a partir da redução do enxofre por ação da enzima cisteína desulfidrase. Apresentam ainda como características metabólicas a capacidade de descarboxilação dos aminoácidos lisina e ornitina, redução de nitrato a nitrito e utilização do citrato como única fonte de carbono, podendo ocorrer variações em função do sorovar e/ou da subespécie (EWING, 1986; COSTA; HOFER, 1972).

As salmonelas se adaptam facilmente a condições ambientais extremas; são resistentes à dessecação e ao congelamento podendo sobreviver no ambiente por anos (GRIFFITH et al., 2006 apud SILVA, 2008). São sensíveis à luz solar e desinfetantes como fenóis, clorados, quartenário de amônio e iodados (BOROWSKY et al., 2006).

Crescem dentro de uma ampla faixa de temperatura (2° a 54°C), com temperatura ótima de 37°C e também exibem propriedades psicrotróficas, como refletido em sua habilidade para crescer em alimentos estocados a 2 a 4°C. Na maioria das vezes quando são submetidas continuamente a baixas temperaturas, podem aumentar marcadamente seu crescimento e sobreviver em produtos alimentícios refrigerados. Tais características resultam em questionamento acerca da eficácia no uso de temperaturas frias garantindo a segurança de alimentos através da bacteriostase (LÁZARO et al. 2008; FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Por não formarem esporos são relativamente termo sensíveis, podendo ser destruídas a 60°C, por 15 a 20 minutos. Multiplicam-se em atividade de água acima de 0,93 e em uma faixa de pH entre 4.5 e 9.5, tendo 7.0 como o pH ótimo de multiplicação e apresentam sensibilidade a pH inferiores a 4.1. Não toleram bem o sal, sendo eliminadas de ambientes com teores acima de 9%. (LÁZARO et al. 2008; TORTORA; FUNKE; CASE, 2005).

As salmonelas possuem antígenos (antígenos somáticos “O”, de parede celular; antígeno Vi (capsular) e antígenos “H” (flagelos) que permitem sua discriminação em sorovares, com a ajuda de soros aglutinantes monoespecíficos (EWING, 1986; COSTA; HOFER, 1972).

Foram os trabalhos pioneiros de Schütze em 1920, depois seguidos por White em 1929, que mostraram serem estes germes possuidores de antígenos comuns e passíveis de identificação desde que fossem feitas absorções apropriadas nos antissoros produzidos (BIER, 1985).

O antígeno somático (O) localiza-se na fração lipopolissacarídica da parede celular bacteriana. A fração lipopolissacarídica é formada por um lipídio (lipídio A - que contém endotoxinas que produzem febre no hospedeiro quando atingem a corrente sanguínea) ligado a uma porção polissacarídica (cerne - comum a todas as salmonelas), de onde partem cadeias laterais monossacarídicas. As cadeias laterais monossacarídicas são bastante específicas, determinando o antígeno (O) de cada sorovar. Em alguns casos, as salmonelas podem não apresentar o antígeno (O) quando cultivadas, formando colônias irregulares (colônias rugosas), não sendo possível sorotipá-las (não tipáveis). É termoestável (1hora/100°C), não sendo destruído pelo álcool etílico a 50°GL (CDC, 2006; COSTA; HOFER, 1972).

O antígeno flagelar ou antígeno H (*Hauch*) é de composição protéica, designada flagelina. As diferenças antigênicas surgem devido a variações na seqüência de aminoácidos das diferentes moléculas de flagelina (EWING, 1986).

Os antígenos H podem se apresentar sob duas formas genotipicamente diferentes na mesma célula bacteriana. Esse fenômeno é denominado de variação de fase, denominadas fase 1, designada por letra minúscula e fase 2, designada por algarismos arábicos. Algumas salmonelas não possuem flagelos (imóveis), outras são monofásicas (possuem flagelos de uma só fase), mas a grande maioria é bifásica (possuem dois tipos de flagelos designados fase 1 e fase 2). A mudança entre as duas fases se baseia no mecanismo de funcionamento dos genes

responsáveis pela síntese dos flagelos (gene H1, fase 1 e gene H2 fase 2) (FERREIRA; CAMPOS, 2008; FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Esta capacidade de alterar suas propriedades antigênicas traz vantagens óbvias para as células bacterianas, uma vez que aqueles indivíduos da população que mudaram de fase poderão sobreviver mediante resposta imune do hospedeiro. Se o hospedeiro produz anticorpos contra H1, às bactérias que transitaram para H2 ainda serão capazes de sobreviver e multiplicarem-se (CDC, 2006).

A estrutura flagelar possui como característica importante a termolabilidade, podendo ser destruído a 100°C por uma hora, bem como após ação lenta do álcool 50°GL, sendo resistente à solução de formol a 0,5% (CDC, 2006; EWING, 1986; COSTA, HOFER, 1972).

O antígeno capsular “Vi” é termolábil, podendo ser destruído pelo aquecimento da suspensão a 100°C/10 a 15 minutos é comumente encontrado em *Salmonella* ser. Typhi sendo útil para a identificação desse sorovar. Também pode ser ocasionalmente detectado em *Salmonella* ser. Dublin e *Salmonella* ser. Paratyphi C (CDC, 2006; EWING, 1986; COSTA, HOFER, 1972).

Kauffmann, tomando como ponto de partida os estudos de Bruce White, elaborou uma tabela diagnóstica (Esquema de Kauffmann-White), na qual a tipificação sorológica se baseia na identificação dos antígenos (“O”, “Vi” e “H”). Esta tabela é progressivamente ampliada à medida que novos sorovares são identificados (BRENNER, 2000).

A atual classificação é baseada em estudos fenotípicos e genotípicos e dividem o gênero em apenas duas espécies: *Salmonella enterica* e *Salmonella bongori*, sendo a primeira subdividida em seis subespécies: *S. enterica* subespécie *enterica* (I), *S. enterica* subespécie *salamae* (II), *S. enterica* subespécie *arizonae* (IIIa), *S. enterica* subespécie *diarizonae* (IIIb), *S. enterica* subespécie *houtenae* (IV) e *S. enterica* subespécie *indica* (VI) (LOUREIRO et al., 2010; GRIMONT; WEILL, 2007).

Em 2004, uma nova espécie foi proposta, *Salmonella subterranea*, isolada em sedimento subterrâneo de solo com baixo pH na Oak Ridge, Tennessee. Essa amostra apresentou forte inter-relação com *S. bongori*, por meio de sequenciamento 16S rRNA, além de algumas características metabólicas, como indol positivo, H₂S e lisina descarboxilase negativa, pigmento amarelo e um flagelo lateral. A amostra-tipo proposta é ATCC BAA-86 (SHELOBOLINA et al., 2004).

Em cada subespécie são reconhecidos diferentes números de sorovares tendo por base a caracterização de seus antígenos somáticos (O) e flagelares (H). Atualmente foram identificados mais de 2500 sorovares incluídos em duas espécies *S. enterica* e *S. bongori*, cuja distribuição editada por Grimont e Weill (2007) é apresentada na Tabela 1.

Tabela 1. Distribuição dos 2579 sorovares de *Salmonella* de acordo com espécie e subespécie.

Espécies/Subespécies	Sorovares
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i>	1490
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>salamae</i>	500
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>arizonae</i>	94
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>diarizonae</i>	320
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>houtenae</i>	72
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>indica</i>	12
<i>Salmonella bongori</i>	22

Grimont; Weill, 2007

Antes da taxonomia do gênero *Salmonella* ser estabelecida com base científica, as subespécies de *S. enterica* eram consideradas como subgêneros e os sorovares como espécies. Sua nomenclatura que indevidamente considerava como nomes de espécies, tinha sua grafia em itálico. Esta se pautava na designação com base em síndromes clínicas, tipos de hospedeiros ou mesmo baseada na região geográfica onde foi primariamente isolado um sorotipo.

Na atualidade a taxonomia empregada foi estabelecida durante o “International Congress of Microbiology – Moscou” e publicada no International Journal of Systematic Bacteriology (GRIMONT; WEILL, 2007). Esta toma por base a distinção de espécies e subespécies com base em características metabólicas.

Entretanto seria complexo tentar alterar sua nomenclatura original bem como sua fórmula antigênica, especialmente para os sorotipos da subespécie enterica, que representam > 99,5% das cepas de *Salmonella* circulantes no mundo, tendo sido estabelecido para o sorovar ter como primeira letra do nome uma letra maiúscula. Sorovares de outras subespécies de *S. enterica* e de *S. bongori* são designados apenas por sua fórmula antigênica.

Deste modo, os seguintes exemplos estão corretos: *S. enterica* subsp. *enterica* sorovar Typhimurium ou *S. enterica* sorovar Typhimurium, *Salmonella* ser. Typhimurium. Denominações, tais como *Salmonella* ser. Typhimurium ou S.I, S. II, etc. devem ser limitadas a anotações de laboratório, uma vez que a abreviação (*S.*) do gênero (*Salmonella*) não deve ficar sem ser seguido por epíteto específico (*S. enterica*).

Os sorovares pertencentes às demais subespécies e a *Salmonella bongori*, de baixa incidência em patologia humana ou animal, se designam com o nome da subespécie seguido da fórmula antigênica, por exemplo, *Salmonella* subsp. IV 50: b: - (*Salmonella enterica* subsp. *houtenae* 50:b:-). Aqueles incluídos na subespécie *enterica* são designados com o nome da síndrome clínica (*Salmonella* ser. Typhi), fonte de isolamento (*Salmonella* ser. Typhimurium) ou origem geográfica (*Salmonella* ser. Panama). Esta nomenclatura é utilizada pelo Centers for Disease Control and Prevention (CDC) e pela Organização Mundial da Saúde (OMS) (GRIMONT; WEILL, 2007; CDC, 2006).

O conhecimento da epidemiologia da salmonelose é a principal ferramenta de controle sanitário da doença. O marcador epidemiológico de eleição deste gênero é o sorotipo. A caracterização antigênica é uma técnica estável, simples e por sua ampla utilização permite o monitoramento dos principais sorotipos constituindo-se uma importante ferramenta epidemiológica (MASLOW; MULLIGAN; ARBIT, 1993).

2.1.2 Patogênese, tratamento e controle

Embora todos os sorovares de *Salmonella* devam ser considerados como patogênicos, apenas um número limitado deles é responsável por infecções no homem e animais.

Entre as espécies, aquelas de maior frequência em infecções humanas pertencentes à *S. enterica* subspécie *enterica*, tem como habitat os animais de sangue quente e apresenta maior número de sorovares. *S. enterica* subsp. *salamae*, subsp. *arizonae* e subsp. *diarizonae* são frequentemente isoladas de animais de sangue frio e raramente do homem ou animais de sangue quente. *S. enterica* subsp. *houtenae* e *S. bongori* são predominantes de isolados do ambiente e raramente patogênicas para o homem (GRIMONT; WEILL, 2007; CDC, 2006).

O grau de adaptação ao hospedeiro varia entre as espécies e pode afetar o homem de três maneiras: a) os sorovares adaptados ao homem, como a *Salmonella* ser. Typhi, a *Salmonella* ser. Paratyphi A e a *Salmonella* ser. Sendai, que geralmente causam doenças graves como a febre entérica ou tifoide, em geral não são patogênicas aos animais; b) os

sorovares altamente adaptados aos animais, tais como a *S. Gallinarum* em aves, usualmente não produzem sintomas no homem ou quando ocorrem são brandos; os sorovares Choleraesuis e Typhisuis (suínos) e Dublin, em bovinos, entre outros. *Salmonella* ser. Choleraesuis e *Salmonella* ser. Dublin, em determinadas situações, tais como indivíduos portadores de doenças crônicas, idosos, imunocomprometidos, podem ocasionar quadro septicêmico. Este é mais grave do que aquele determinado por *Salmonella* ser. Typhi; e c) os sorovares ubíquos ou zoonóticos, tais como a *Salmonella* ser. Typhimurium e *Salmonella* ser. Enteritidis, que podem afetar o homem e animais, determinando principalmente infecções sub clínicas sendo os principais causadores de doenças transmitidas por alimentos (DTA) (POPOFF; LE MINOR, 2005).

Geralmente as infecções resultam em uma gastroenterite, mas pode ocorrer a disseminação da bactéria além do trato intestinal, e causar uma infecção sistêmica. Sua virulência é multifatorial, incluindo plasmídeos, toxinas, fimbrias e flagelos conferindo à bactéria a habilidade para penetrar e multiplicar nas células epiteliais, resistência a ação do complemento, produção de entero, cito e endotoxina. A luz do conhecimento atual sabe-se que para provocar a doença, *Salmonella* conta com múltiplos fatores de virulência, principalmente aqueles contidos nas Ilhas de Patogenicidade, denominados SPI (*Salmonella Pathogenicity Islands*) (HENSEL, 2004).

Estas são formadas por seqüências específicas de DNA bacteriano, que codificam determinantes de virulência responsáveis por interações específicas com o hospedeiro, algumas são conservadas no gênero *Salmonella* enquanto outras são específicas para determinado sorovar (VAN ASTEN & VAN DIJK, 2005; HENSEL, 2004). Estas ilhas são geralmente caracterizadas como tendo conteúdo G + C menor do que o resto do genoma, estando localizadas perto de elementos de inserção ou genes tRNA e conferem características únicas de virulência de patógenos.

Entretanto, sabe-se que vários patógenos contem material genético adquirido através da transferência horizontal, geralmente mediado por fagos que aumentam sua virulência no hospedeiro. Em *Salmonella*, muitos desses eventos de transferência horizontal podem culminar na aquisição de ilhas de patogenicidade, muitas descobertas até hoje, porém seu papel na infecção ainda é desconhecido (THOMPSON et al., 2006; HAUTEFORT et al., 2008).

Entre aquelas cujo conteúdo vem sendo bem estabelecido, podemos citar cinco Ilhas para *Salmonella enterica*: SPI-1, onde os genes *inv*, *spa* e *hil* são necessários para auxiliar na invasão da bactéria em células não fagocíticas, como aquelas do epitélio da mucosa intestinal. SPI-2, SPI-3 e SPI-4 têm seus genes primariamente requeridos para o crescimento e sobrevivência da bactéria na fase sistêmica da doença; já SPI-5 codifica fatores de virulência envolvidos na inflamação e secreção de cloretos, caracterizando a fase entérica da doença.

SPI-1 e SPI-2 codificam reguladores estrutural e funcionalmente diferentes para o sistema de secreção do tipo III (T3SS), o qual é responsável pela liberação de proteínas efetoras dentro da célula do hospedeiro que levam a uma reorganização do citoesqueleto de actina celular. SPI-3 é necessária para a sobrevivência dentro de macrófagos e o crescimento em ambientes com baixa concentração de íons magnésio (Mg^{+2}), durante a fase sistêmica da doença. SPI-4 parece ter importante papel na sobrevivência no interior dos macrófagos, e pode ser que contribua na secreção de toxinas. Semelhante à SPI-1, a SPI-5 aparece principalmente associada com a enteropatogênese, estando envolvida na inflamação e na secreção de cloretos (THOMPSON et al., 2006; HAUTEFORT et al., 2008).

Alguns dos genes não residentes nas SPI que também apresentam um papel na doença são: *slyA*, *phoPIQ*, *agfA* e *stn*, codificando, respectivamente, regulador de transcrição de genes de virulência requerido para a sobrevivência nos macrófagos (inicialmente identificados como salmolisina), dois componentes reguladores da transcrição da virulência da *Salmonella*,

finas fimbrias de agregação e uma enterotoxina (THOMPSON et al., 2006; HAUTEFORT et al., 2008).

Entretanto muitos sorovares de *Salmonella* abrigam plasmídios de virulência com tamanhos variáveis, dependendo do sorovar. Todos estes compartilham uma região altamente conservada, com cinco genes designados *spvRABCD* (Plasmídio de Virulência de *Salmonella*), a qual parece promover rápido crescimento e sobrevivência do microorganismo nas células de hospedeiros, sendo importante para a infecção sistêmica em animais experimentais (SOTO et al., 2006).

A capacidade das salmonelas para causar infecções depende de vários fatores, como o sorotipo envolvido, a virulência da cepa, a dose infectante e a imunocompetência do indivíduo exposto. O hospedeiro conta com fatores de defesa, como a acidez gástrica, a ação da bile, peristaltismo, mucosa intestinal, lisozimas, lactoferrinas e ainda a interferência da microbiota, que pode dificultar a colonização pelo patógeno. Alterações destes fatores tornam o indivíduo mais susceptível a contrair infecções. (TORTORA; FUNKE; CASE, 2005).

De um modo geral, as doenças causadas por *Salmonella* costumam ser categorizadas em três grupos: Febre Tifóide ocasionada por *Salmonella* ser.Typhi; Febres Entéricas por *Salmonella* ser.Paratyphi A, B e C) e enterocolite ou salmoneloses, causadas pelas demais salmonelas (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

A febre tifóide só acomete o homem e devido a *Salmonella* Typhi não ser encontrada em animais, sua disseminação é atribuída à contaminação da água e alimentos por material fecal humano. Sua endemicidade é maior em áreas sem saneamento ou com saneamento básico precário (FERREIRA; CAMPOS, 2008; CDC – Salmonella, 2011).

A infecção é sistêmica, iniciando-se com a penetração nas células epiteliais intestinais, passando a lâmina própria (camada logo abaixo da epitelial), e entrando na corrente linfática. As bactérias são então englobadas por células de defesa (macrófagos), só que, ao invés de serem destruídas, passam a se multiplicar. Esta multiplicação leva a lise das células fagocíticas liberando o microorganismo na corrente sanguínea. Uma vez atingindo a corrente circulatória, o patógeno pode atingir diversos órgãos, especialmente o baço, fígado e vesícula biliar. O tempo para que isso ocorra, explica o tempo de incubação da febre tifóide que é de 2 a 3 semanas. Os sintomas clínicos podem durar até 8 semanas, entretanto, o paciente pode a vir a se tornar um portador crônico, principalmente quando o microorganismo se aloja na vesícula biliar. Neste caso o hospedeiro passa a disseminar a bactéria por tempo indeterminado. Um dado importante sobre a doença, e que, uma vez dentro dos macrófagos, a *Salmonella* ser.Typhi não sofre ação dos antibióticos, razão pela qual a antibioticoterapia nem sempre é eficiente em um único tratamento. Normalmente as cefalosporinas de terceira geração, como a ceftriaxona são comumente indicadas no tratamento (FRANCO; LANDGRAF, 2008; FERREIRA; CAMPOS, 2008; TORTORA; FUNKE; CASE, 2005). Estima-se ainda que estes agentes possam causar cerca de 22.000 milhões de casos e 200.000 mortes a cada ano, principalmente em regiões onde o saneamento básico é deficiente e água limpa é inacessível (CRUMP; LUBY; MINTZ, 2004).

O período de incubação após a ingestão de alimentos ou água contaminados com salmonelas varia entre oito e 72 horas. A ingestão de 10^5 a 10^8 células viáveis é o suficiente para o desenvolvimento da doença. O quadro clínico inicia com náuseas e vômitos seguidos de dor abdominal e fezes amolecidas, geralmente de tamanho moderado e geralmente contêm PMN. A febre ocorre em mais da metade dos casos, temperaturas pode ser alcançada mesmo de 38-39°C. Muitas vezes ocorrem cólicas abdominais (CDC – Salmonella, 2011).

Menos freqüentemente, os sintomas têm sido descritos como cefaléia, mialgia e outras do tipo sistêmico (MILLER; PEGUES, 2000). Este quadro é geralmente auto-limitado e os

sintomas desaparecem em um período de 2-5 dias no caso de gastroenterite, ou 2-3 semanas, no caso de enterocolite mais debilitante. Remissão dos sintomas coincide com o aumento da resposta imune específica do hospedeiro, que consegue controlar a infecção pela ativação de macrófagos e grande parte dos pacientes se recupera apenas com o tratamento de reposição de fluidos por via oral.

Após a infecção (principalmente infecções intestinais, febre tifóide ou infecção do trato urinário), a eliminação de bactérias nas fezes persiste por diferentes períodos (geralmente várias semanas), especialmente em convalescentes. Existe também um estado de portador crônico assintomático, que é a forma mais comum e pode ser devido ao contato com baixa dose infectante. Portadores crônicos são considerados igualmente aqueles que continuam a eliminação da bactéria nas fezes por períodos superiores a um ano, que ocorre em cerca de 1% a 3% dos pacientes com febre tifóide, que chegam a excretar quantidades da ordem de 10^6 - 10^9 bactérias por grama de fezes. Estado de portador para outras salmonelas ocorre em 1% dos pacientes com mais de quinze anos e 5,4% das crianças menores de dois anos (JONES; FALKOW, 1996, MILLER; PEGUES, 2000).

Em casos de diarreia severa, os pacientes podem necessitar de hospitalização e receber rehidratação intravenosa. Registros de hospitalizações e letalidade normalmente estão relacionados a populações de risco (crianças, idosos e imunodeprimidos) (CDC – Salmonella, 2011).

Devido à natureza auto-limitante, o emprego de terapia antimicrobiana normalmente não é requerido. Antibióticos como ampicilina, sulfametoxazol-trimetoprim e ciprofloxacina, geralmente não são necessários, a menos que a infecção assuma caráter invasivo. Todavia, a utilização de antimicrobianos é essencial em pacientes imunodeprimidos, idosos ou crianças, ou ainda em casos de bacteremia, meningite ou outras infecções extra-intestinais (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Um pequeno número de pessoas com *Salmonella* pode desenvolver dor nas articulações, irritação nos olhos e dor ao urinar. É a chamada Síndrome de Reiter, que pode durar de meses a anos, e levar à artrite crônica, que é de difícil tratamento. (CDC, 2011; SOUZA; MAGNANI; OLIVEIRA, 2010).

Os animais também são acometidos por salmoneloses. No gado bovino, a patologia caracteriza-se por febres, diarreias, anorexia, depressão e redução na produção de leite. Nos suínos, os sintomas nem sempre se limitam a enterocolites, evoluindo em alguns casos para septicemia, com elevados índices de mortalidade. Nas aves a infecção normalmente é atribuída a animais jovens, representando grande perdas nas granjas (TORTORA; FUNKE; CASE, 2005).

Uma grande variedade de sorovares de *Salmonella* pode infectar os suínos, mas a doença clínica é freqüentemente causada por *Salmonella* ser. Choleraesuis e *Salmonella* ser. Typhimurium (OLIVEIRA e CARVALHO, 2003). A salmonelose ocorre principalmente em porcos desmamados, sendo que, em adultos e lactantes, a doença clínica dificilmente acontece. No entanto, nesses animais é comum a infecção sub clínica constituindo-se portadores assintomáticos que contribuem para a manutenção do agente nos rebanhos e, conseqüentemente, o risco de contaminação da cadeia produtiva (BERENDS; URLINGS; SNIDJERS, 1996; SCHWARTZ, 2000).

Nesta espécie animal a forma clínica pode se manifestar como septicemia ou enterocolite aguda ou crônica.

A forma septicêmica ocorre principalmente em suínos menores de cinco meses de idade e cursa com uma elevada letalidade. As manifestações clínicas podem variar, porém com freqüência se observa febre elevada, cianose das orelhas e dificuldade respiratória. Em face da natureza sistêmica da infecção a manifestação predominante são as hemorragias disseminadas. Os animais que sobrevivem a esta forma clínica ficam como portadores e

podem eliminar a bactéria pelas fezes durante cerca de 12 meses. *Salmonella* ser. Choleraesuis é o principal agente responsável pela forma septicêmica ou generalizada da doença, sendo isolada de porcos clinicamente doentes (CARDOSO, 2009; SCHWARZ, 2009).

Habitualmente, esta forma é causada por *Salmonella* ser. Choleraesuis, no entanto vem sendo descrito o envolvimento de *Salmonella* ser. Typhimurium em septicemia (FEDORKA-CRAY et al., 1994).

A forma entérica é mais freqüente em suínos de 6-8 semanas de idade, causada principalmente pelo sorovar Typhimurium, o qual também vem sendo encontrado em muitos casos de salmonelose em outras espécies animais. Outros sorovares como *Salmonella* ser. Derby e *Salmonella* ser. Agona vem sendo notificados por seu envolvimento em salmonelose suína (OLIVEIRA e CARVALHO, 2003).

A doença pode apresentar-se sob a forma aguda ou crônica, sendo porém mais comum a forma aguda caracterizando-se por febre elevada e diarréia profusa.

Na forma crônica inicia-se com a elevação da temperatura corporal e diarréia intermitente podendo durar várias semanas resultando em perda progressiva de peso. Os sobreviventes refugam e a mortalidade varia de 20% a 40% (SOBESTIANSKY et al., 1998).

Os animais que se recuperam tornam-se portadores e excretadores intermitentes destes sorotipos, contribuindo para a manutenção do agente no rebanho. Por outro lado, são os sorovares que não causam doença clínica no suíno os que têm maior importância para a segurança alimentar, uma vez que o animal portador não apresenta sintomas, mas é uma fonte permanente de contaminação desde a granja até o processamento industrial (SCHWARTZ, 2000).

2.1.3 Ecologia e Epidemiologia

O conhecimento da epidemiologia da salmonelose é a principal ferramenta para o controle sanitário da doença. O marcador epidemiológico de eleição deste gênero é o sorotipo. A sorotipagem é uma técnica estável simples e por sua ampla utilização permite o monitoramento dos principais sorotipos constituindo-se uma importante ferramenta epidemiológica.

Na atualidade, o gênero *Salmonella* vem ocupando uma das posições mais destacadas no campo da saúde pública mundial devido as suas características de endemicidade, morbidade, ampla e variada ocorrência no homem e animais (mamíferos, répteis, aves), pela existência de portadores assintomáticos e em particular pela dificuldade em seu controle. Esse quadro decorre de diferentes parâmetros epidemiológicos, destacando-se as inúmeras fontes de infecção e vias de transmissão presentes no ciclo (CDC, 2011).

As salmonelas são amplamente distribuídas na natureza, sendo o trato intestinal do homem e de animais, domésticos e selvagens (mamíferos, aves e répteis), os principais reservatórios naturais (FERREIRA; CAMPOS, 2008).

Com exceção dos sorovares adaptados a um hospedeiro em particular, os sorovares que são capazes de infectar indiferentemente o homem e uma grande variedade de animais, sorovares zoonóticos, como *Salmonella* ser. Enteritidis e *Salmonella* ser. Typhimurium, são considerados os maiores responsáveis pelas infecções de origem alimentar (FERREIRA; CAMPOS, 2008; CDC, 2011).

A transmissão de *Salmonella* também pode ocorrer via contato com animais infectados (principalmente entre veterinários e trabalhadores de granjas e fazendas). A contaminação pode ocorrer ainda através do contato com animais de estimação, tais como, cães, lagartos,

cobras, iguanas, tartarugas, ou ainda através de artrópodes atraídos por grandes quantidades de animais domésticos ou de dejetos (FERREIRA; CAMPOS, 2008; KICH, 2002; CDC – Salmonella, 2011; OMS, 1988).

Outros animais como os mariscos e sapos, podem servir também de veículos de contaminação. Este fato reveste-se de particular importância quando se capturam esses animais aquáticos em áreas contaminadas. Uma vez sacrificados, seus produtos ajudam a propagar a infecção se as condições permitem a sobrevivência e proliferação da bactéria (OMS, 1988).

Pode-se isolar também salmonelas do meio ambiente, incluindo as águas de superfície, os efluentes do sistema de esgoto, a lama cloacal e os produtos agrícolas contaminados com água poluída. O homem pode infectar-se também com alguma dessas fontes (OMS, 1988).

A transmissão de pessoa a pessoa se dá principalmente em ambientes hospitalares onde temos uma seleção de cepas mais resistentes às drogas associadas a potenciais hospedeiros com o sistema imune debilitado, entretanto a principal via de transmissão de *Salmonella* para o homem está na cadeia alimentar (FERREIRA; CAMPOS, 2008; KICH, 2002; CDC, 2011).

A salmonelose é uma zoonose que acomete milhares de pessoas ao redor do mundo todos os anos. Apesar da altíssima incidência de surtos de salmonelose relatados, a magnitude do problema ainda é subestimada, pois a maioria dos casos não é notificada. Como a salmonelose é uma doença auto-limitante, muitas vezes ela não é diagnosticada corretamente. Além disso, como a maioria das pessoas infectadas não procura atendimento médico, amostras clínicas nem sempre são obtidas para testes laboratoriais e muitas vezes os resultados encontrados não são comunicados aos órgãos de saúde responsáveis (RABSCH; TSCHÄPE; BÄUMLER, 2001).

Segundo dados do *Center for Diseases Control and Prevention* (CDC-USA), *Salmonella* spp. representa o patógeno de maior prevalência em países da América do Norte e Europa. Entre 1993-1997 de 655 surtos envolvendo 32.610 indivíduos das quais 74,4%, foram devidos a *Salmonella* spp. (MEAD et al., 1999). A prevalência deste patógeno embora tenha sido reduzida em face às normas adotadas, em 2005, entre surtos de transmissão alimentar nos EUA é apontada como responsável por 6.471 (38,9%) casos humanos (CDC, 2006), destacando-se os sorovares *S.Typhimurium* (19%), *S.Enteritidis* (18%), *S.Newport* (10%), *S.Heidelberg* (6%) e *S.Javiana* (5%). Na Nova Zelândia o percentual de surtos envolvendo este microrganismo variou de 10-15% entre 1997 e 2002, mantendo-se dentro deste percentual nos últimos quatro anos, enquanto na Europa representou na década de 90, o agente etiológico em 54,6% dos casos. Em 2007, *Salmonella* e *Campylobacter* representaram os dois agentes mais comumente isolados de infecções de DTA com mais de 350.000 casos reportados.

Dados mais recentes apontam que aproximadamente 40.000 casos de salmonelose são relatados nos Estados Unidos, dos quais cerca de 400 são fatais. Entretanto, como muitos casos mais leves não são diagnosticados ou notificados, o número real de infecções pode ser mais de trinta vezes maior, estimando-se algo em torno de 1,4 milhões de casos (CDC 2011).

No Brasil, a prevalência de *Salmonella* é reconhecidamente elevada, a semelhança de outros enteropatógenos como *E.coli*, *Shigella* spp. e *Campylobacter* spp., onde falhas no saneamento e oferta de água propiciam sua manutenção em índices significativos. Adicionalmente, o perfil de incidência deste microrganismo encontra-se em processo ascendente de disseminação, devido ao surgimento de sorovares com características pandêmicas como *S. Enteritidis* e *S.Typhimurium* DT104, sendo este último foco de preocupação em diferentes regiões da Europa e América do Norte, pois além da elevada incidência apresenta perfil de multirresistência antimicrobiana, o que tem comprometido seu tratamento e prevenção (THRELFALL, 2000).

Relatórios encaminhados pelo Laboratório de Referencia Nacional/IOC à CGLAB/DEVEP/SVS/MS, nos últimos cinco anos, apontam progressão geométrica na incidência de *Salmonella* spp. entre isolados de origem humana, com percentuais mais elevados nas regiões nordeste e sudeste. Apesar da subnotificação, tem ocorrido aumento acentuado e contínuo do número de casos vinculados a determinados sorovares no Brasil, os quais variam geograficamente, contudo vem sendo observada uma inter-relação entre os sorovares incidentes em alimentos de origem animal, a partir de animais criados para consumo e nos isolados de origem humana (CARDOSO; TESSARI, 2008; RODRIGUES, 2005-2010). Apesar de ocorrerem surtos associados ao consumo dos mais variados alimentos, sem dúvida os produtos de origem animal têm um papel de destaque como via de transmissão para o consumidor (CARDOSO, 2006).

O fator epidemiológico mais destacado é o estado de portador comum nos animais. A falta de sintomas na maioria dos animais infectados e as dificuldades técnicas para detectar esses portadores antes da inspeção da carne ou durante a mesma os convertem em fonte contínua de contaminação do meio ambiente e, portanto, dos produtos de origem animal (CARDOSO, 2009).

Praticamente qualquer produto pode veicular *Salmonella* spp. destacando-se a carne de frango, de suínos, bovinos e ovos. A carne suína participa em frequência variável como causadora de surtos; em países com elevado consumo desse tipo de carne estima-se que até 25% dos casos sejam relacionados com seu consumo (CARDOSO, 2009; CDC, 2011).

2.1.4 O suíno como fonte de salmonelas zoonóticas

A suinocultura vem crescendo na última década numa proporção de 2,78% ao ano. Este crescimento foi muito mais acentuado nos países em desenvolvimento (média de 4,45% de aumento ao ano), contra (0,83% de aumento ao ano) nos países desenvolvidos. No Brasil, a suinocultura também vem apresentando um desempenho crescente nos últimos anos, tanto em volume de produção como na qualidade dos produtos. Para se ter uma idéia a cadeia suína brasileira conta com mais de 30 milhões de cabeças, uma produção de 3 milhões de toneladas de carne, gerando cerca de 630 mil empregos diretos e indiretos, movimentando investimentos no campo e na indústria na ordem de R\$ 9 bilhões, receita de R\$ 84 bilhões, sendo R\$ 30,4 bilhões no mercado interno, R\$ 2,6 bilhões no mercado externo, R\$ 51,6 bilhões na distribuição e no varejo, sendo uma importantíssima atividade econômica, principalmente no Sul e Sudeste do País (NETO, 2009; MONTEIRO, 2007; EMBRAPA, 2011; ABIPECS, 2008).

Dados do relatório anual da Associação Brasileira da Indústria Produtora e Exportadora de Carne Suína / ABIPECS referente ao ano de 2009 apontam a carne suína como a proteína mais consumida no mundo, com uma produção de 115 milhões de toneladas, sendo quase a metade produzida na China e outro terço na União Européia (UE) e nos Estados Unidos da América (EUA). A participação do Brasil tem crescido em importância no mercado mundial. O País é o quarto maior produtor, com 3% da produção e 11% das exportações.

Ao contrário do perfil mundial, o consumo de carne suína no Brasil é inferior ao das carnes de frango e bovina. O consumidor nacional prefere os produtos processados (frescos, cortes temperados, curados e cozidos etc.). Mesmo assim, a carne suína “*in natura*” representa mais de um terço do consumo.

O comércio internacional de carne suína está concentrado em cinco países importadores (Japão, Federação Russa, México, Coreia do Sul e Hong Kong) enquanto os Estados Unidos, a União Europeia, o Canadá, o Brasil e a China são responsáveis por 96%

das exportações mundiais. O principal destaque dos últimos anos é o desempenho das vendas externas brasileiras, que em dez anos ampliaram sua participação nas exportações mundiais de 4% em 2000 para 11% em 2009.

De acordo com a ABIPECS, em 2010, mesmo com as barreiras sanitárias, com o aumento dos subsídios europeus e o crescimento da concorrência internacional, as exportações brasileiras cresceram acima da média dos competidores (Suinocultura Industrial, 2010).

Diante do exposto verifica-se que a cadeia produtiva da suinocultura atingiu um alto patamar de tecnificação e de credibilidade de seus produtos, onde se busca atender às rígidas exigências do mercado, além de ser a carne mais consumida no mundo fornecendo cerca de 38% da ingestão protéica diária mundial (EMBRAPA, 2011; CARNE SUÍNA BRASILEIRA – Padrões de Consumo, 2011; SILVA, 2008).

Porém, problemas associados à intensificação produtiva persistem, e precisam ser enfrentados considerando as diversas realidades de produção. A infecção por *Salmonella* dos rebanhos suínos e, conseqüentemente, a presença desse microrganismo nos produtos de origem suína, tem sido motivo de preocupação, tendo em vista que pode representar um importante risco para o consumidor (SILVA, 2008; CARDOSO, 2006).

Estudos epidemiológicos demonstraram a alta prevalência, ainda que com variabilidade entre diferentes regiões, desse microrganismo na suinocultura brasileira. Prevalência de até 77% de contaminação por *Salmonella* spp. em suínos abatidos já foi encontrada na suinocultura brasileira (SCHWARZ et al. 2006).

A epidemiologia da infecção por *Salmonella* spp. em suínos é complexa, apresentando múltiplos fatores determinantes da transmissão do microrganismo. Ao longo da cadeia de produção é possível observar a amplificação do problema, geralmente pela rápida transmissão da bactéria a animais não infectados, após o contato com ambientes e animais positivos para *Salmonella*. Conseqüentemente, os suínos tem sido implicados como importantes fontes de disseminação de *Salmonella* para os seres humanos via cadeia alimentar, pois apesar destes animais poderem se contaminar por um grande número de sorovares, os sintomas clínicos são associados a poucos sorotipos, ao passo que a maioria dos sorovares isolados nesta espécie animal não costumam causar sintomas e passam despercebidos por todas as fases zootécnicas.

Dessa forma, a maioria dos casos de infecção não serão notados, e o microrganismo poderá contaminar a carcaça e os produtos derivados, tanto do animal portador como de outros abatidos no mesmo lote. Sendo assim, a garantia de um produto livre de *Salmonella* deve passar por medidas de controle implementadas na granja, no transporte, na espera pré-abate e na linha de processamento. Somente a ação integrada em todas as fases garantirá o sucesso dos programas de controle (SILVA, 2008; CARDOSO, 2009; KICH, 2005).

Devido ao fato da *Salmonella* spp. ser eliminada nas fezes dos animais infectados, a via fecal-oral é considerada a base da transmissão do patógeno (FEDORKA-CRAY et al., 2000).

O frequente isolamento de *Salmonella* em partículas de poeira em granjas suínas (RAJIC et al., 2005), e sua capacidade de manter-se viável por longos períodos em aerossóis sugerem a possibilidade de transmissão aerógena entre suínos. Embora a principal via de transmissão seja a fecal-oral, trabalhos experimentais tem evidenciado a transmissão aerógena de *Salmonella enterica* nesta espécie animal (OLIVEIRA et al., 2006).

Algumas fontes de introdução de *Salmonella* spp. em granjas são bem conhecidas e envolvem, principalmente, aquisição do animais infectados excretando o microrganismo; água, rações e ingredientes contaminados; vetores; roedores e pássaros, veículos e mesmo funcionários ou visitantes que circulam na mesma.

Outro fator a ser considerado são as situações de estresse vividas pelos animais no período de pré-abate e transporte, onde há uma queda no sistema imunológico.

Devido aos suínos poderem ser infectados por *Salmonella* em até 30 minutos de uma exposição mínima ao agente (HURD et al., 2004), a alta prevalência de isolamento de *Salmonella* spp. poderia ser atribuída à infecção dos animais nas baias de espera, ao efeito do estresse de manejo e ao transporte no período pré-abate (KORSAC et al., 2003; ROSTAGNO, 2002, 2003). Lázaro; Tibana; Hofer (1997) encontraram 20% de amostras positivas para *Salmonella* spp. em baias de espera em frigoríficos no Rio de Janeiro. No entanto, estudos conduzidos por FUNK et al. (2001), identificaram as granjas produtoras de suínos como a origem mais freqüente de rebanhos que chegam infectados ao abate.

É sabido que o tempo necessário para que *Salmonella* spp. alcance o trato intestinal e os linfonodos mesentéricos dura em torno de duas horas, portanto a mistura de lotes portadores e suscetíveis, mesmo que algumas horas antes do abate pode amplificar o problema, fazendo com que um número maior de portadores seja introduzido nas linhas de processamento, aumentando o risco de contaminação de carcaças e produto final (CARDOSO, 2009; SCHWARZ et al., 2009; MÜLLER et al., 2009; CASTAGNA et al., 2004; KICH, 2002).

Kich et al. (2005) obtiveram índice de 23,85% de prevalência de carcaças contaminadas enquanto que, em linhas de abate com alta prevalência de suínos portadores, em média 90% das amostras de massa para fabricação de embutidos foram positivas (CASTAGNA et al., 2004).

O produto contaminado, por sua vez, pode ser fonte de contaminação cruzada para outros alimentos nos estabelecimentos comerciais, restaurantes ou casa do consumidor. Da mesma forma, o armazenamento e a manipulação inadequados desses alimentos podem vir a permitir a multiplicação da bactéria até um número capaz de causar doença no indivíduo exposto. A ocorrência de casos da doença em humanos dependerá de diversos fatores: presença e quantidade da bactéria no produto, armazenamento e manipulação do alimento, forma de preparo do alimento (cozido ou não) e suscetibilidade do indivíduo. (KICH, 2002).

A reunião de todos esses fatores resulta em uma enorme capacidade de amplificação do processo de disseminação do patógeno ao longo de toda a cadeia produtiva, tornando o controle dessa zoonose extremamente complexo.

Nos suínos uma grande variedade de sorovares causam infecção assintomática, entretanto *S. Typhimurium* costuma ser um dos mais freqüentemente isolados. Além da *Salmonella* ser. Typhimurium, os sorovares Derby, Bredeney, Anatum, Enteritidis e Agona tem sido identificados com elevada freqüência em suínos portadores no Brasil e no mundo (WILKINS et al., 2010; MÜLLER et al., 2009, FOLEY; LYNNE; NAYAK, 2008; BAHNSON et al., 2006; BESSA et al., 2004). Portanto é possível identificar que, em termos de segurança dos alimentos, o sorovar Choleraesuis adaptado ao suíno não tem importância. Assim, os animais infectados passam despercebidos por todas as fases zootécnicas e o momento da infecção não pode ser identificado clinicamente, chegando infectados ao abate (MÜLLER et al., 2009, FOLEY; LYNNE; NAYAK, 2008).

As boas práticas de fabricação adotadas no abate e na linha de processamento serão de crucial importância para a contaminação da carcaça e do produto final. Entretanto, não se pode esquecer que o principal fator crítico na linha de abate é o índice de animais portadores e que em prevalências elevadas de animais positivos as boas práticas de fabricação, por si só, não poderão evitar a contaminação (CARDOSO, 2006; SWANENBURG et al., 2001).

De acordo com vários autores, *Salmonella* é transmitida ao animal principalmente através do alimento e os linfonodos mesentéricos agem como uma barreira, tornando-se, mais tarde, fonte de contaminação para a carcaça e para o produto final (MÜLLER et al. 2009;

SPOLAORE, 2007; BAHNSON et al., 2006; SCHWARTZ, 2000; DAMMAN; BAHNSON; WEIGEL, 1999; LÁZARO; TIBANA; HOFER, 1997; COSTA et al., 1972).

2.2 Antimicrobianos *versus* Resistência

“A compulsão para ingerir medicamentos talvez seja a grande característica que distingue as pessoas dos outros animais”.
Sir William Osler – Médico e Educador (1849-1919).

Os antimicrobianos são substâncias químicas utilizadas no combate a microrganismos. Estes agentes podem ser inespecíficos, quando atuam sobre microrganismos em geral (anti-sépticos e desinfetantes), e específicos, quando atuam sobre microrganismos que causam doenças infecciosas no homem e animais (antibióticos e quimioterápicos) (SPINOSA; GÓRNIK; BERNARDI, 2006).

Foi a partir da descoberta do bacteriologista escocês, Alexander Fleming (1928), de um composto capaz de inibir o crescimento microbiano (penicilina), e seu posterior uso, com notória diminuição dos índices de mortalidade nos soldados feridos durante a segunda guerra mundial, que tiveram início, de forma acelerada, os grandes avanços e descobertas no campo destas substâncias “milagrosas” (BURTON; ENGELKIRK, 2005).

Nos dias de hoje, mais de cinco mil antibióticos são conhecidos pela ciência, cerca de mil foram estudados, entretanto apenas uma centena é utilizada na prática terapêutica. A descoberta destes agentes pode ser considerada como um dos mais importantes avanços em saúde na história da humanidade, diminuindo o sofrimento causado por doença e salvando vidas. Doenças que no passado eram consideradas incuráveis e letais, nos dias de hoje são passíveis de serem tratadas com apenas alguns comprimidos (KATZUNG, 2005).

“A promessa dos antibióticos parece estar desvanecendo-se.
Hoje nós estamos diante de uma maré crescente de microrganismos antibiótico-resistentes, que causam doença grave.
Em alguns casos raros, os microrganismos são intocáveis pela medicina moderna, resistentes a todos os antibióticos a nossa disposição.”

(De Needham C. et al.: *Intimate Strangers: Unseen Life on Earth*. Washington, DC, ASM Press, 2000)

Na natureza, nos alimentos, no homem e nos animais, os microrganismos são submetidos a uma variada gama de fatores injuriantes (antibióticos, temperaturas extremas, mudanças de pH, desidratação, uso de conservadores, atmosferas modificadas, etc.) e, para sobreviver, devem ser capazes de desenvolver mecanismos que possibilitem a manutenção de sua viabilidade e capacidade de multiplicação. E neste contexto, merece destaque a resistência a fármacos antibióticos (BERTOLONI, 2002).

Bactérias resistentes a antibióticos existem naturalmente em qualquer população, entretanto o que preocupa é a velocidade e a maneira como essa resistência esta avançando. Neste contexto a pressão seletiva imposta pelo uso irracional destes fármacos merece destaque. O uso de um antimicrobiano para tratar uma infecção, ou como melhorador de desempenho animal, causa impactos não só nos patógenos específicos, mas também dizima as populações suscetíveis naturais do organismo. Estirpes resistentes tendem a prosperar e expandir-se, colocando o paciente em maior risco no futuro, sem contar na possibilidade de

transmissão para outros indivíduos. Pelo exposto, afirma-se que a resistência antimicrobiana é um problema global de saúde pública, que é afetada pela utilização de antibióticos humanos e não humanos. O aumento descontrolado de microorganismos resistentes, ameaçam a vida humana e animal, além de serem dispendiosos para os serviços de saúde, que por sua vez apresentam recursos limitados na maioria das regiões do mundo (FIORENTIN, 2005; WHO, 2011; BOGAARD; STOBBERINGH, 2000).

A resistência antimicrobiana é, portanto, a capacidade que alguns microrganismos possuem de resistir aos “ataques” de fármacos antimicrobianos. De modo simples pode-se então definir resistência antimicrobiana como sendo a não eliminação de um determinado microorganismo por um antibiótico eleito, enquanto que esta ação ou eliminação se denomina sensibilidade (BORDIN; KICH, 2007).

Os agentes antimicrobianos, freqüentemente descritos como “drogas sociais”, trazem conseqüências não só para o paciente, mas também para a comunidade local, e potencialmente para todo o mundo. Isto ocorre porque nos microrganismos os genes que codificam resistência freqüentemente estão localizados em elementos transferíveis (plasmídeos), o que facilita sua disseminação. O uso de antimicrobianos perturba o equilíbrio das populações microbianas, levando a um aumento de microrganismos resistentes e mudanças nos padrões de infecções. A resistência antimicrobiana é, portanto impulsionada pelas decisões dos pacientes, profissionais de saúde, agricultores e veterinários (PALERMO-NETO, 2007).

Pelo exposto pode-se dizer que os efeitos da resistência a antimicrobianos são de longo alcance. No homem, quando a droga de escolha para tratar a infecção não funciona, exige-se tratamento com medicamentos de segunda ou terceira escolha que podem ser menos eficazes, mais tóxicos e mais caros, ou seja, os pacientes vão sofrer mais e pagar mais pelo tratamento. Nos animais, cita-se o recrudescimento da doença, a disseminação do agente infeccioso por todo o plantel, a redução do desempenho e do ganho de peso, o aumento da morbidade e da mortalidade dos animais, as dificuldades no manejo da criação, maiores gastos com profilaxia, desinfecção e tratamento dos animais e diminuição do rendimento financeiro (PALERMO-NETO, 2007; CDC, 2011).

2.2.1 Mecanismos de resistência

“Quando a ciência constrói uma ratoeira melhor,
a natureza cria um melhor rato.”

Anônimo.

Os microorganismos, através de uma variedade de mecanismos eficazes, têm a capacidade de se adaptar as pressões ambientais, e sua resposta as pressões impostas pelo contato com antibióticos não é diferente. (KATZUNG, 2005).

Durante bilhões de anos, bactérias e fungos têm produzido substâncias químicas para protegê-los contra o ataque de outros microorganismos. Aqueles usados na medicina clínica, hoje são chamados de antibióticos ou agentes antimicrobianos. Como forma de sobrevivência, outros micróbios desenvolveram mecanismos para resistir ao efeito tóxico de agentes antimicrobianos. A resistência antimicrobiana é, portanto, um fenômeno antigo codificado em genes de resistência transmitida através de linhagens microbianas. Cepas sensíveis podem se tornar resistentes através de mutações em genes já existentes ou através da aquisição de um gene de resistência a partir de outro organismo que já é resistente. Essa resistência pode ser natural, como por exemplo, a sua própria constituição física ou ainda adquirida, envolvendo fatores genéticos (plasmídeos, transposons), que teriam a possibilidade de disseminar

informações para outras bactérias, incluindo de outras espécies, gêneros e nichos ecológicos diferentes (WHO, 2011; VAZ, 2009; BORDIN; KICH, 2007).

Há quatro principais mecanismos pelos quais as bactérias são capazes de iludir a ação de agentes antimicrobianos: presença de enzimas específicas que modificam ou inativam o antibiótico antes ou depois da entrada da bactéria; modificação da membrana bacteriana, tornando-se menos permeável aos antimicrobianos; efluxo ativo de antibióticos; síntese de uma molécula ou a modificação da célula-alvo (DAMASCENO, 2010 apud TENOVER, 2006).

Estes mecanismos não precisa ocorrer de forma isolada, mas duas ou mais podem interagir para determinar o nível final de resistência de um microorganismo. Usualmente os genes selecionados e mecanismos bioquímicos mais frequentemente em *S. enterica* (MICHAEL et al., 2006), basicamente afetam tanto as "famílias" ou tipos de antimicrobianos usados na terapia de salmonelose (como beta-lactâmicos, aminoglicosídeos, fenólicos, quinolonas, trimetoprim) bem como outros (tetraciclina e sulfonamidas) não usados especificamente para o seu controle (TENOVER, 2006 apud DAMASCENO, 2010).

2.2.2 Uso de antibióticos na produção agropecuária

Os antimicrobianos apresentam grande importância tanto na medicina humana quanto veterinária, entretanto nos animais, estas substâncias vêm sendo utilizadas não somente no tratamento curativo, mas também de modo preventivo, de maneira estratégica ou ainda como (promotor de crescimento. Esta utilização reflete resultados positivos em ganho de peso, melhoria na conversão alimentar, uniformidade dos lotes e ainda auxilia na manutenção da saúde intestinal, impedindo a exacerbação de agentes patogênicos causadores de diarreias (BORDIN; KICH, 2007).

Em suínos, a percepção de desempenho, avaliada sobre o ponto de vista da produção animal, consiste em melhora na eficiência reprodutiva e maior direcionamento de nutrientes para a deposição muscular. Nesse sentido, para se obter melhores resultados várias práticas zootécnicas foram desenvolvidas e adotadas, das quais, muitas delas foram movidas por forças de cunho econômico. Entre essas cita-se o aumento da produtividade das matrizes suínas associado a um desmame precoce dos leitões. Entretanto o desmame precoce expõe os leitões a uma carga maior de estresse, principalmente de origem nutricional (VAZ, 2009; RUTZ; LIMA, 2001).

Freqüentemente o estresse é acompanhado por queda no consumo de alimentos, seguido por uma deficiência energética e mobilização das reservas corporais. A má digestão e a má absorção associadas ao estresse podem ainda resultar em perturbações digestivas, principalmente devido à alteração da microbiota natural do trato gastrintestinal. A esse quadro associam-se patologias digestivas, que em suínos, é causada principalmente por bactérias Gram-negativas, em especial a *Escherichia coli* e salmonelas, que se encontram normalmente presentes no intestino dos animais. Para evitar os sintomas (perda de peso, desidratação e mortalidade), tem sido prática comum adicionar doses preventivas ou terapêuticas de antibióticos (VAZ, 2009; RUTZ; LIMA, 2001).

Os mecanismos de ação dos APCs (antimicrobianos como promotores de crescimento) ainda não foram totalmente desvendados, todavia atribui-se seus resultados ao papel desempenhado por estes fármacos na microbiota do trato digestivo. Sua utilização resulta em uma redução no número de bactérias patogênicas, conseqüentemente a parede intestinal tem um crescimento reduzido, tornando-se mais fina. Ocorre redução no "turnover" de enterócitos e diminuição da umidade fecal, facilitando a absorção de nutrientes. Soma-se a isto a

diminuição de ocorrências de infecções subclínicas. A junção destes fatores tornam os antimicrobianos extremamente eficientes, na medida que, propiciando ao animal expressar o máximo do seu potencial genético (FIORENTIN, 2005; RUTZ; LIMA, 2001).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (WHO, 2011), mundialmente, a maior parte dos antimicrobianos administrados, não são utilizados no tratamento de enfermidades humanas, mas são dados aos animais (bovinos, suínos, ovinos, frangos, peixe, etc.) para fins de produção de alimentos. Entretanto, estes fármacos não estão sendo utilizados apenas para tratar animais doentes, ressalta-se seu uso na profilaxia de patogenias de alta incidência e como promotores de crescimento. Além de seu uso na criação de animais destinados a alimentação humana, drogas antimicrobianas são também utilizadas em animais de companhia (pets), na agricultura de plantas (frutas, legumes, orquídeas, etc.), e aplicações industriais (dutos de óleo, tintas industriais).

Algumas cepas de *Salmonella* se tornaram resistentes aos antibióticos, em grande parte como resultado do seu uso para promover o crescimento de animais destinados à alimentação. (CDC – *Salmonella*, 2011).

Pereira et al. (2007) salienta sobre a importância da utilização prudente de agentes antimicrobianos na agricultura, e no tratamento de pacientes veterinários, a fim de contribuir para minimizar o surgimento de multirresistência. Em seus estudos avaliando diferentes fontes no Brasil de 1999-2004 (humana, animal, alimento e ambiente), foi encontrado alta prevalência de *S. Typhimurium* (54%), em especial o fagotipo DT 193 (64,3%) (multirresistente), que está se tornando importante para a saúde pública e, muitas vezes associada a produtos suínos. Palermo-Neto (2007) reforça a importância de que o tratamento de suínos com antimicrobianos deve ser sensato, prudente, e de acordo com as boas práticas clínicas para uso de antimicrobianos em animais de produção.

2.2.3 Políticas públicas

Adicionalmente aos animais de produção, o comércio internacional de produtos agrícolas e as conseqüentes mudanças nos padrões de consumo, tem facilitado a propagação da infecção por *Salmonella* associada com frutas e legumes. A superfície dos vegetais podem ser contaminados com fezes humanas ou animais. Da mesma forma, salmonelose associada com animais exóticos também vem aumentando progressivamente, resultando em alguns países, entre 3-5% dos casos. Esta está associada principalmente com répteis dos quais cerca de 90% são portadores de *Salmonella* particularmente em países do hemisfério norte. De modo semelhante o contato com outras espécies animais, como pássaros, roedores, cães e gatos, representam fontes potenciais de salmonelose.

Os agentes antimicrobianos são medicamentos essenciais para a saúde humana e animal. Considerados por muitos como "drogas milagrosas", seu uso se constitui numa poderosa arma de combate a infecções e, ainda hoje, são descritos como a principal via no tratamento de doenças infecciosas (KATZUNG, 2005). No entanto, o uso inadequado destes fármacos, tem acelerado o desenvolvimento de bactérias antibiótico-resistentes, acarretando em um encurtamento da vida útil da droga. As β -lactamases de espectro estendido (ESBL), que hidrolisam a maioria dos compostos β -lactâmicos, são um bom exemplo disto (DROPA, 2006).

Neste contexto pode-se dizer que o surgimento acelerado de bactérias antibiótico-resistentes emerge como um dos principais problemas à Saúde Pública, e é considerado um dos maiores desafios da medicina na atualidade. Na tentativa de contornar a problemática do surgimento destas bactérias resistentes, muitos programas de controle e monitoramento,

nacionais e internacionais, foram lançados, principalmente a partir da década de 1990 (WHO, 2011).

De maneira geral, estes programas visavam à conscientização sobre o uso racional de antimicrobianos, o controle da disseminação de cepas resistentes e/ou de seus genes, além da pesquisa sobre os mecanismos de transmissão da resistência e novos métodos de detecção da mesma (DROPA, 2006).

Dropa (2006) cita alguns exemplos internacionais desses programas: Projeto Intensive Care Antimicrobial Resistance Epidemiology (ICARE), da Escola Rollins de Saúde Pública da Universidade de Emory (Atlanta, Geórgia), desde 1995; SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, desde 1997; Meropenem Yearly Susceptibility Test Information (MYSTIC), desde 1997; European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS), desde 1998; Preventing Emerging Infectious Diseases: a Strategy for de 21st Century, do Center for Diseases Control (CDC), em 1998; Paul-Ehrlich-Gesellschaft (PEG), desde 1998 (Alemanha); Task Force on Antimicrobial Resistance (TFAR), da Food and Drug Administration (FDA), desde 1999; e Pan-European Antimicrobial Resistance using Local Surveillance (PEARLS), desde 2001.

Em outubro de 2010, a diretoria colegiada da ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2010), por meio da RDC nº 44, dispõe o regulamento para o controle de medicamentos à base de substâncias classificadas como antimicrobianos. Entre as principais determinações, cita-se: 1) A venda de fármacos a base de substâncias antimicrobianas somente poderá ser efetuada mediante receita de controle especial, sendo que, a 1ª via deverá ser retida no estabelecimento farmacêutico, e a 2ª via devolvida ao cliente, atestada, como comprovante do atendimento; 2) As receitas deverão ser apresentadas de forma legível e sem rasuras, por profissionais devidamente habilitados; 3) As receitas deverão obrigatoriamente conter as seguintes informações: a) nome do medicamento ou da substância prescrita; b) dosagem ou concentração, quantidade (em algarismos arábicos e por extenso) e posologia; c) identificação do emitente: nome do profissional com sua inscrição no conselho regional ou nome da instituição, endereço completo, telefone, assinatura e marcação gráfica (carimbo); d) identificação do usuário (nome completo); e) identificação do comprador: nome completo, número do documento oficial de identificação, endereço completo e telefone (se houver); f) data da emissão; 4) Na embalagem do medicamento deverá constar, em tarja vermelha e destaque a expressão: Venda Sob Prescrição Médica - Só Pode ser Vendido com Retenção da Receita. A mesma expressão deverá ser contida na bula, em destaque e em letras de corpo maior de que o texto; 5) Os estabelecimentos deverão manter a disposição das autoridades sanitárias a documentação fiscal referente à compra, venda, transferência ou devolução das substâncias antimicrobianas bem como dos medicamentos que as contenham por um período mínimo de 5 (cinco) anos após sua dispensação ou aviamento; 6) As receitas de antimicrobianos terão validade de 10 (dez) dias a contar da data de sua emissão.

O governo dinamarquês banuiu o uso de antimicrobianos com fim exclusivo de promoção de crescimento em animais desde 1999. Os efeitos positivos sobre a resistência antimicrobiana no país serviram de exemplo para o restante da Europa. Em julho de 2003, o parlamento europeu aprovou um regulamento sobre aditivos alimentares, que trazia à proibição de antibióticos promotores de crescimento em animais destinados a alimentação humana na União Européia (EUROSURVEILLANCE, 2003).

2.2.4 *Salmonella* e resistência aos antimicrobianos

Metade da produção mundial de antibióticos de uso veterinário é destinado ao tratamento e/ou prevenção de doenças em animais, e até mesmo a ser utilizado no passado

como promotores de crescimento. De fato, o surgimento de cepas resistentes a certos antibióticos em bactérias de origem clínica foi precedido por seu uso em animais. Um exemplo é o aumento da resistência às quinolonas, observada após a aprovação da enrofloxacinina para uso veterinário. Não obstante, o papel dos animais como reservatórios de resistência a antibióticos em infecções humanas é controverso, em contraste com a reconhecido generalizado de alimentos como o principal veículo de transmissão *Salmonella* em humanos (BAGER; HELMUTH, 2001).

Um dos fatos por trás dessa polêmica é a falta de evidências claras a favor de bactérias resistentes encontrados em animais também causar infecções humanas de difícil tratamento. Além disso, nem todos os fenótipos de resistência são igualmente importantes, nem todos os antimicrobianos para os quais as bactérias são resistentes são de escolha no tratamento da infecção humana. Outro fato que contribui é a necessidade de comprovar a associação entre o consumo de fluoroquinolonas e o surgimento de resistência a este antibiótico, já que muitas vezes não existe correlação por outros agentes. A dinâmica de transmissão de bactérias resistentes também é muito complexa.

Mas para se ter uma idéia do impacto sobre o uso da saúde pública veterinária de fluoroquinolonas pode comparar a situação de resistência a estes agentes em amostras de *Salmonella* nos EUA e no Reino Unido. Nos EUA entre 1994-1995, o total de 4.008 isolados de *S. enterica* resistentes às fluoroquinolonas e ácido nalidíxico. Neste país desde meados dos anos 80 eram empregadas fluoroquinolonas em medicina humana (\pm 7% de todos os antimicrobianos utilizados), mas seu uso havia sido aprovado em alimentos para animais. No Reino Unido, onde o uso de fluoroquinolonas em animais de produção foi aprovado em 1993 e a proporção de cepas resistentes de *S. Typhimurium* em humanos aumentou de 1% em 1994 para 12% em 1996. Isto sugere que o uso de fluoroquinolonas em medicina humana, tem muito pouco impacto sobre o aparecimento de estirpes resistentes, enquanto em uso veterinário desempenha papel significativamente maior. Atualmente, fluoroquinolonas estão na lista da OMS de antibióticos devem ser reservados para uso em seres humanos (BAGER; HELMUTH, 2001).

Relatório da FAO/WHO/OIE (2008), aponta que a disseminação da resistência antimicrobiana é um problema de saúde pública global o que remete para a expectativa que os países produtores de carne implementem e ampliem os programas de vigilância sanitária para reduzir ou impedir a emergência e disseminação de cepas bacterianas resistentes (PALERMO-NETO, 2008).

O aumento da resistência antimicrobiana em *Salmonella* não tifóide tem implicações importantes da saúde pública. A alta taxa de resistência ocorre devido ao uso convencional de antibióticos, principalmente em criações extensivas, que embora seja a maneira mais rápida de responder a uma doença, podem causar um aumento na virulência dos patógenos. Embora a cadeia de transmissão da bactéria seja complexa, estudos epidemiológicos e laboratoriais tornam possível traçar a resistência antimicrobiana de *Salmonella* na sua fonte primária, ou seja, alimentos de origem animal (CARVALHO et al. 2006).

O primeiro informe de resistência em *Salmonella* remonta aos anos 60 e descreve casos de cepas monorresistentes. A partir da década de 70 ocorreu um aumento da resistência de *Salmonella* spp. aos antimicrobianos, com o percentual elevando-se de 17% para 31% ao final dos anos 80 (WHO, 1997; NETO, 2001), incluindo-se drogas de última geração, como por exemplo, as quinolonas (NARMS, 2006).

Como abordagem da evolução histórica da resistência aos antimicrobianos (LÁZARO et al., 2008), em nível de Brasil, inúmeras avaliações individuais, relacionadas ao monitoramento da resistência vêm sendo efetuadas desde a década de 50, tendo Cisalpino (1957, apud LÁZARO et al., 2008) analisado a sensibilidade de salmonelas isoladas a partir de 1947 e verificado o aumento progressivo de amostras resistentes. Entre as décadas de 60 e

70 este percentual ascendeu, como apontado por Costa *et al.*, (1967) e Hofer *et al.*, (1974) apud Lázaro *et al.*, 2008.

Durante os anos 80, estudos realizados em diferentes regiões do país, em cepas de origem humana, alimentar, animal e ambiental, revelam a resistência simples ou múltipla em *Salmonella* spp, bem como capacidade de transferência destes marcadores (LÁZARO *et al.* 2008; LÁZARO *et al.* 2004 PESSOA *et al.*, 1980; apud LÁZARO *et al.* 2008).

Na atualidade, tal condição vem apontando perspectivas sombrias no tratamento de infecções por diferentes espécies bacterianas, incluindo *Salmonella* spp. resistentes às fluoroquinolonas e cefalosporinas de 3ª geração, drogas utilizadas no tratamento da salmonelose invasiva (RODRIGUES *et al.*, 2010).

Dentro dessa temática, um dos principais problemas é a emergência de salmonelas resistentes a múltiplos antibióticos isoladas de casos de doenças de transmissão alimentar tornando esses patógenos ainda mais perigosos (TASSIOS *et al.*, 2000).

Diante dessas circunstâncias, a vigilância da resistência antimicrobiana é essencial para disponibilizar informações sobre sua magnitude e tendências, e para monitorar o efeito das intervenções, pois a prevalência de resistência pode variar nas diferentes regiões ou épocas (WHO, 2006).

O presente estudo teve por objetivo analisar a ocorrência e distribuição dos sorovares circulantes de *Salmonella* em produtos de origem suína, de diferentes regiões do país, apontando tendências quanto à emergência destes na veiculação de resistência aos antimicrobianos, informações que em seu conjunto visam ofertar subsídios que podem ser empregados nas atividades para o seu controle em nosso meio.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local e Infra-estrutura de Desenvolvimento do Projeto

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Enterobactérias - LABENT Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ, RJ.

3.2 Amostragem de Estudo

A amostragem de estudo, foi composta de dois grupos de cepas: o primeiro obtido a partir da seleção no banco de dados do Laboratório de Enterobactérias – LABENT/IOC/FIOCRUZ, de cepas de *Salmonella* isoladas de produtos de origem suína, relacionadas a alimentos envolvidos em surtos de transmissão alimentar (prato pronto), produtos de venda (industrializados), bem como produtos apreendidos durante inspeção, em diferentes regiões do país.

Estas foram recebidas no período de janeiro de 2005 a dezembro de 2009, tendo sido previamente caracterizadas como *Salmonella* spp pelos Laboratórios pertencentes ao Sistema Nacional de Laboratórios de Saúde Pública, Universidades Públicas, Instituições públicas e privadas, e encaminhadas para caracterização antigênica conclusiva, ao Laboratório de Enterobactérias, Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ-RJ.

O segundo grupo tomou por base o mesmo critério de seleção acima apontado tendo incluído as cepas recebidas e analisadas no período janeiro a junho de 2010. No Quadro 1 são discriminados os produtos de origem suína, distribuídos de acordo com as categorias, segundo informações das instituições remetentes.

Quadro 1 - Discriminação dos produtos de origem suína de acordo com as categorias analisadas.

Categorias	Produtos analisados
Produtos de venda (industrializados)	Cortes <i>in natura</i> , miúdos, embutidos, bacon, toucinho, hambúrguer, carnes temperadas, carnes salgadas
Prato pronto (surtos)	Carne assada, embutidos, bacon, lombo suíno
Inspeção	Embutidos, carne <i>in natura</i> , carne processada

3.3 Procedimentos Laboratoriais

3.3.1 Confirmação da Identificação Bioquímica Sumária

As cepas, mantidas em caldo BHI/glicerol a -70°C e/ou Agar Nutriente Fosfatado (COSTA; HOFER, 1972), foram inoculadas em Caldo Nutriente (Difco®) e, posteriormente, isoladas em Agar Entérico Hektoen (Oxoid®). Em seqüência, as colônias foram repicadas simultaneamente em Agar Nutriente inclinado e nos meios de triagem Costa & VERNIN (CV) e Agar Lisina Ferro (LIA) seguido de incubação $37^{\circ}\text{C}/18$ a 24 horas (COSTA; HOFER, 1972).

Após identificação presuntiva nos meios de triagem, a avaliação de seu perfil bioquímico foi efetuada através da sementeira em meio de SIM, para comprovação da mobilidade, produção de indol e gás sulfídrico, utilização do citrato como fonte única de carbono, descarboxilação da L-lisina, provas estas que definem presuntivamente o gênero *Salmonella* de acordo com os critérios estabelecidos por Costa & Hofer (1972) (Quadro 2).

Quadro 2 - Perfil bioquímico de *Salmonella enterica* subsp. *enterica*

Provas Bioquímicas		Reações
Meio de Costa & VERNIN		Meio inalterado, com certa alcalinidade no ápice (esverdeado). Presença de H_2S ; ausência de gás; móvel ou imóvel
		Reações idênticas às acima citadas, sem H_2S
Agar Lisina Ferro (LIA)		Base e ápice alcalino (púrpura), presença de H_2S . Exceção: <i>S. Paratyphi A</i> - base amarela/ápice púrpura
		Reações idênticas às acima citadas, sem H_2S
SIM	Mobilidade	+
	Indol	-
	H_2S	+
Gás em Glicose		+
Citrato de Simmons		+
Lisina descarboxilase		+
Ornitina descarboxilase		+

3.3.2 Caracterização antigênica conclusiva

Todas as cepas selecionadas no banco de dados tiveram seu perfil antigênico confirmado através da técnica de soro aglutinação rápida, em lâmina, com anti soros poli e monovalentes, somáticos e flagelares, preparados no Laboratório de Enterobacterias, Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Rio de Janeiro.

A identificação do sorovar específico foi realizada com base no esquema sorológico de Kauffmann-White e representada de acordo com os critérios de Grimont; Weill (2007).

3.3.3 Determinação da suscetibilidade aos antimicrobianos

O LABENT realiza, como procedimento de rotina, o monitoramento da suscetibilidade aos antimicrobianos em aproximadamente 20% das cepas recebidas, tomadas aleatoriamente e os resultados são inseridos no banco de dados. Tomando por base o perfil previamente obtido nas cepas selecionadas do período de janeiro/2005 a dezembro/2009, o mesmo foi reavaliado visando verificar a manutenção fenotípica de tais características.

Deste modo a susceptibilidade aos antimicrobianos foi determinada por disco difusão, seguindo as recomendações preconizadas pelo Clinical and Laboratory Standards Institute CLSI (atualizado anualmente) utilizando fármacos da marca OXOID®, representativos das classes de beta-lactâmicos (penicilinas, monobactâmicos, cefaloporinas de 3ª geração); fenicóis; tetraciclina; quinolonas; aminoglicosídeos; antifolatos e nitrofuranos cuja distribuição encontra-se apresentada no Quadro 3.

O critério de escolha tomou por base, os antimicrobianos eletivos no controle e terapêutica das enteroinfecções bacterianas, àqueles empregados como promotores de crescimento animal, drogas de última geração e orientação da OMS, quanto aos antimicrobianos utilizados no monitoramento da resistência bacteriana.

Para o controle na qualidade de execução e confiabilidade dos resultados obtidos, cepas padrão (*Escherichia coli* ATCC 25922, *E.coli* ATCC 35218, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) são testadas sob as mesmas condições de cultivo e incubação, de acordo com o CLSI.

Para a realização da leitura foram considerados e anotados os diâmetros dos halos de inibição do crescimento e interpretados de acordo com os critérios estabelecidos pelo CLSI, conforme Quadro 4.

Quadro 3 - Drogas utilizadas para Avaliação da Suscetibilidade Antimicrobiana

Antimicrobianos		Sigla
Aminoglicosídeos	Gentamicina	GEN
Antifolatos	Sulfametoxazol - Trimetoprim	SXT
B-Lactâmicos		
Carbapenemas	Imipenem	IPM
Cefalosporinas	Cefalotina	CEP
	Ceftriaxona	CRO
Penicilinas	Ampicilina	AMP
Fenicois	Cloranfenicol	CHL
Nitrofuranos	Nitrofurantoina	NIT
Quinolonas	Ácido Nalidíxico	NAL
	Ciprofloxacina	CIP
Tetraciclinas	Tetraciclina	TCY

Quadro 4 - Padrão de interpretação do Teste de Suscetibilidade aos Antimicrobianos (Difusão por discos).

Antimicrobiano	Sigla	Disco µg.	Diâmetro do Halo (mm)		
			Sensível	Intermediário	Resistente
Ácido Nalidíxico	NAL	30	≥ 19	14 -18	≤ 13
Ampicilina	AMP	10	≥ 17	14 -16	≤ 13
Ceftriaxona	CRO	30	≥ 23	20 - 22	≤ 19
Ciprofloxacina	CIP	5	≥ 21	16 -20	≤ 15
Cloranfenicol	CHL	30	≥ 18	13 -17	≤ 12
Cefalotina	CEP	30	≥ 18	15 -17	≤ 14
Gentamicina	GEN	10	≥ 15	13 -14	≤ 12
Imipenem	IPM	10	≥ 16	14 -15	≤ 13
Nitrofurantoina	NIT	300	≥ 17	15 -16	≤ 14
Sulfametoxazol Trimetoprim	SXT	1,25/23,75	≥ 16	11 -15	≤ 10
Tetraciclina	TCY	30	≥ 15	12 -14	≤ 11

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Ocorrência de *Salmonella* em produtos de origem suína

Nos últimos anos, a suinocultura brasileira vem apresentando um desempenho crescente, com uma cadeia produtiva tão moderna quanto à dos países desenvolvidos. Esse incremento tecnológico se reflete também em maior participação no mercado internacional, mais exigente em termos de qualidade e com barreiras sanitárias cada vez mais rígidas. Dessa forma, a preocupação com o controle de microrganismos transmitidos por alimentos e suas implicações a saúde do consumidor passam a ser uma preocupação a ser compartilhada por todos os elos da cadeia produtiva (EMBRAPA, 2011, NETO, 2009; SILVA, 2008; MONTEIRO, 2007; CARDOSO, 2006).

No que concerne à *Salmonella*, apenas a análise clássica exigida pela legislação onde é pesquisada presença ou ausência em alimentos, embora adequada para a rotina do controle de qualidade, deixa de ser parâmetro suficiente, pois continuam a emergir em todo o mundo novos sorovares com mecanismos de virulência cada vez mais sofisticados, contornando os controles de segurança existentes e atingindo os consumidores (SPRICIGO et. al., 2008; BERTOLONI, 2002; BRASIL, 2001).

Surge então a necessidade de melhorias no monitoramento deste patógeno, como por exemplo a avaliação dos sorovares emergentes, perfil de resistência a antimicrobianos, bem como outros parâmetros que possam servir de subsídios para melhor caracterizar a epidemiologia deste microrganismo (CDC, 2011; LOUREIRO et al., 2010; SILVA, 2008; SPRICIGO et. al., 2008; MALORNY et al., 2008).

Com base nessa necessidade estudos são realizados em todo o país, e em especial o Laboratório de Enterobactérias – LABENT / Laboratório de Referência Nacional para Diagnóstico de Enteroinfecções Bacterianas – LRNDEB / IOC / FIOCRUZ se destaca por sua estrutura (equipamentos e pessoal), confiabilidade, número de análises e tratamento destes dados.

Utilizando-se do banco de dados, no período de janeiro de 2005 a junho de 2010 foram analisadas 1824 cepas de *Salmonella* spp. isoladas de alimentos de origem suína, recebidas pelo Laboratório de Enterobactérias – LRNDEB / IOC / FIOCRUZ para caracterização antigênica conclusiva, provenientes de diversas regiões do país.

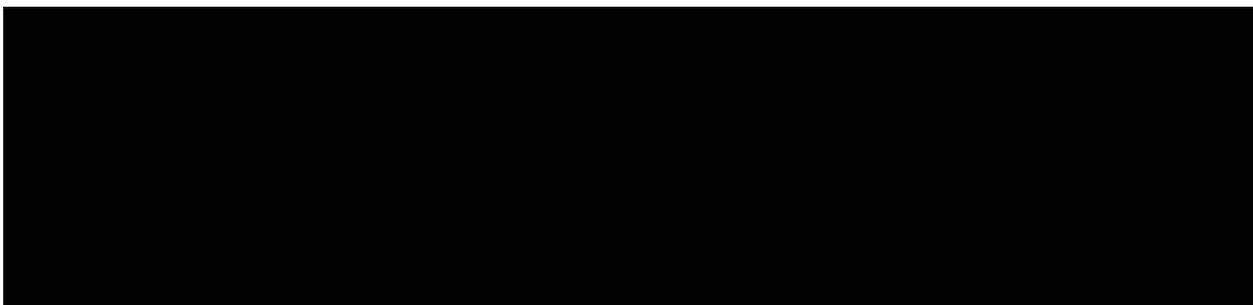
Na tabela 2 podemos observar que a grande maioria das cepas recebidas foram provenientes da região sul (94,35%), o que sugere um maior acompanhamento por parte dos órgãos fiscalizadores e empresas no que confere a segurança do consumidor nessa região, entretanto fazendo uma análise ano a ano percebemos um aumento, ainda que modesto nas regiões centro-oeste e sudeste, provavelmente em virtude de medidas mais efetivas dos órgãos públicos locais, além de pressão dos consumidores por alimentos seguros.

Bertoloni (2002) ressalta o novo perfil destes consumidores, que estão cada vez mais preocupados com o que ingerem, e as novas tendências de exigência do mercado no que diz respeito à segurança e qualidade dos alimentos. E neste contexto onde o mercado dita as regras ter qualidade não é mais um diferencial e sim uma obrigação, e isso nos leva a crer que o Brasil continuará a crescer em demanda por análises mais elaboradas, bem como será balizado por medidas cada vez mais efetivas do poder público, visto sua posição no cenário de produção e comercialização de produtos cárneos.

Além das diferenças regionais em relação às medidas adotadas concernentes a segurança dos alimentos, soma-se ao fato da produção de suínos situar-se em sua maior parte

nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina (57,5% da produção nacional). Entretanto, novos investimentos estão sendo feitos, principalmente na região Centro-Oeste, próximo às áreas com produção excedente de grãos e sementes oleaginosas, em especial nos estados de Mato Grosso e Goiás (SCHULTZ, 2005 apud SILVA, 2008).

TABELA 2 – Frequência de isolamento de *Salmonella* spp em alimentos de origem suína, por região geográfica do Brasil, no período de janeiro de 2005 a junho de 2010.



Apesar dos esforços dos órgãos públicos e empresas brasileiras para reduzir a contaminação por *Salmonella* em produtos cárneos (carne bovina, suína, de aves, etc. e derivados), este patógeno ainda continua chegando à mesa do consumidor, e não raras vezes causando surtos nas diversas regiões do país.

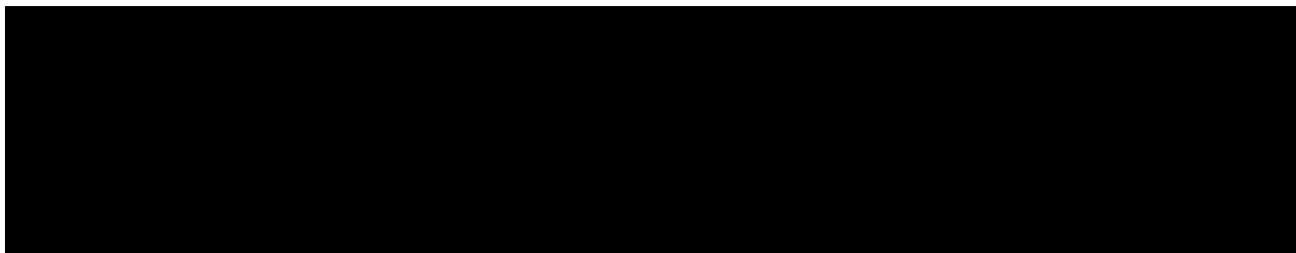
Correlacionando a frequência de isolamento de *Salmonella* no período de análise, com as categorias analisadas (tabela 3), observou-se que 90,02% de espécimes positivos consistiam de produtos industrializados (produtos de venda), índices que se mantiveram constantes durante o período de estudo. Embora o percentual seja relativamente baixo (5,8%) reveste-se de importância o isolamento de *Salmonella* em produtos de origem suína envolvidos com surtos de doenças de transmissão alimentar vez que possivelmente esses dados não reflitam a realidade tendo em vista que a notificação de doenças transmitidas por alimentos, em nosso país, não é obrigatória. Por outro lado, aqueles derivados de inspeção representaram apenas 4,5%.

A ocorrência de *Salmonella* spp. em 90,2% das amostras oriundas de produtos de venda (industrializados) é preocupante e ressalta a importância do consumo de alimentos com procedência sanitária. Também demonstra a relevância desse tipo de produto na veiculação de casos e/ou surtos de salmonelose, seja pelo seu consumo ou mediante contaminação cruzada para outros alimentos (TESSMANN et al., 2008).

Segundo Botledoorn et al. (2004) mais de 70% das contaminações de carcaças por *Salmonella* spp. são originadas de suínos portadores que entram na linha de abate, principalmente pelo extravasamento de conteúdo intestinal durante a evisceração. No entanto, apesar das indústrias aplicarem programas APPCC para o controle do problema, os resultados são influenciados pela pressão da contaminação inicial. Em um cenário de alta prevalência de animais positivos chegando para o abate, o resultado será de alto índice de carcaças e produtos finais contaminados (CASTAGNA et al., 2004; KICH et al., 2005), mesmo em indústrias que apresentem programa de boas práticas de fabricação.

Estes dados apontam para o risco à saúde pública e alertam para a importância do controle do processo e/ou processamento dos alimentos de origem animal, bem como necessidade de intensificação da vigilância sanitária.

TABELA 3 – Frequência de isolamento de *Salmonella* spp. em alimentos de origem suína, de acordo com a fonte e ano de avaliação.



No cômputo geral, entre as 1824 cepas foram identificados 41 sorovares pertencentes à *Salmonella enterica* subespecie *enterica* (1822 cepas) e 2 cepas de *Salmonella enterica* subespecie *houtenae*. Essa variedade de sorovares reforça ser o suíno uma importante fonte de infecção e veiculador, através de seus produtos, de salmonelas zoonóticas (SCHWARZ, 2009).

Entre os 13 sorovares mais frequentes (tabela 4, gráfico 1) destacam-se S. Typhimurium (26,48%), Derby (15,84%), Enteritidis (8,83%), Panama (6,96%), Infantis (6,80%) e Anatum (6,14%), por sua frequência nos cinco anos de estudo. É interessante ainda notar que os sorovares Typhimurium, Derby e Enteritidis somados representam mais da metade (51,15%) das cepas analisadas.

TABELA 4 – Ocorrência e distribuição dos sorovares mais frequentes de *Salmonella* isolados de alimentos de origem suína, no período de janeiro de 2005 a junho de 2010.

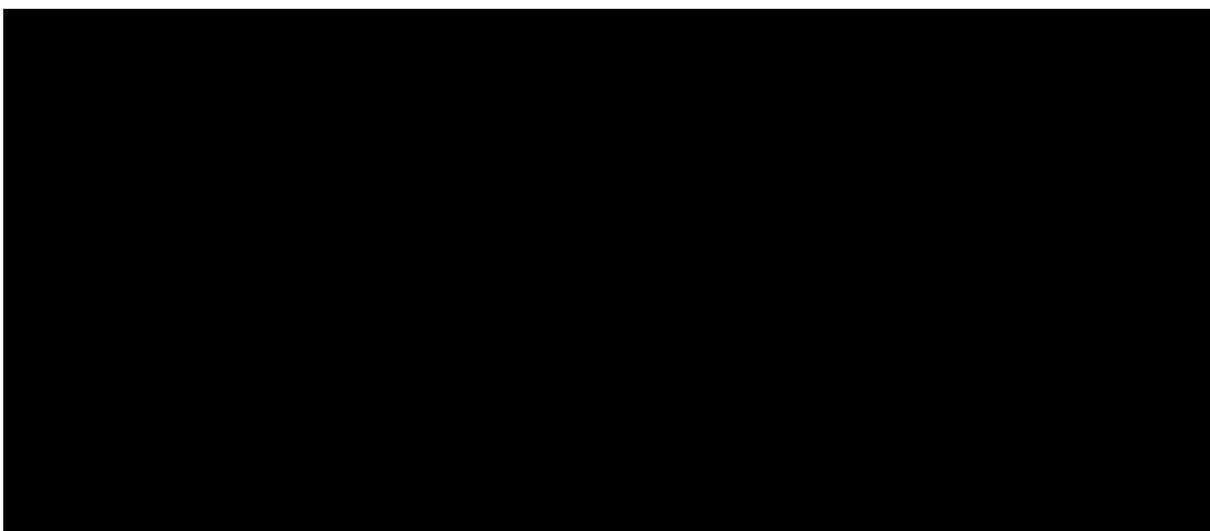
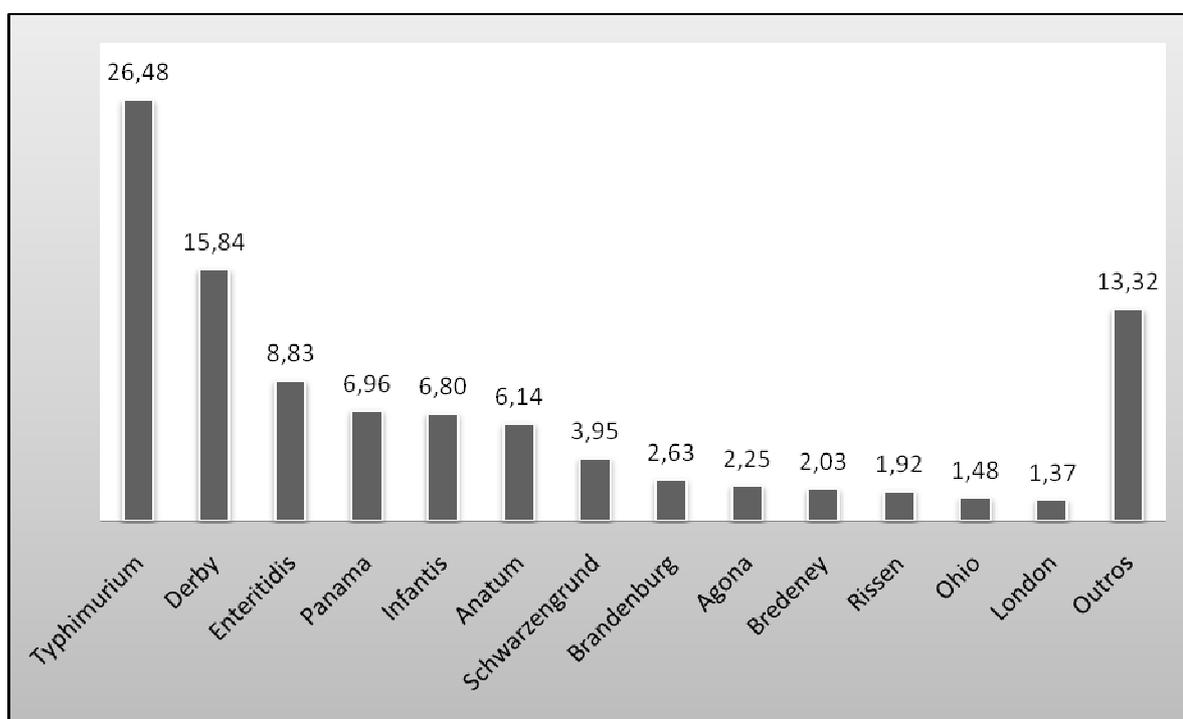
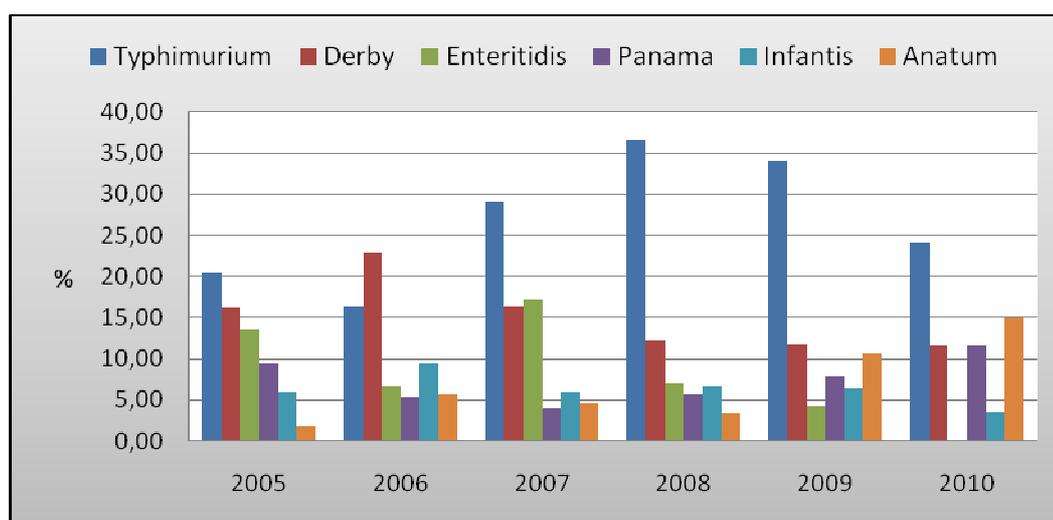


Gráfico 1– Percentual (%) dos sorovares de *Salmonella* oriundos de alimentos de origem suína, no período de janeiro de 2005 a junho de 2010.



Entre os cinco sorovares mais frequentes (Gráfico 2) aponta-se um predomínio do sorovar Typhimurium ao longo do período estudado, exceto no ano de 2006, onde o sorovar Derby (22,96%) ocorreu em maior número.

Gráfico 2 – Percentual de distribuição anual dos cinco sorovares mais frequentes de *Salmonella*, oriundos de alimentos de origem suína no período de janeiro de 2005 a junho de 2010.



Resultados semelhantes para um ou mais sorovares foram encontrados no Brasil por Silva (2008) com maior frequência do sorovar Derby (16%), seguido de *Salmonella* ser. Typhimurium (14%), *Salmonella* ser. GIVE e *Salmonella* ser. London (12%) em Mato Grosso; Tessmann et al. (2008), *Salmonella* ser. Infantis (60,87%), *Salmonella* ser. Typhimurium (30,43%), *Salmonella* ser. Panama (4,35%) e *Salmonella* ser. Derby (4,35%) em Pelotas, Rio Grande do Sul.

Considerando o grande número de isolamentos oriundos de embutidos, 639 (35%) das 1824 cepas estudadas, procurou-se fazer uma avaliação quanto aos sorovares que apresentaram maior frequência nesse tipo de alimento em relação ao período analisado.

Foram identificados nesta categoria, 13 sorovares destacando-se *Salmonella* ser. Typhimurium (21,1%), *Salmonella* ser. Derby (12,5%) e *Salmonella* ser. Panama (8,3%) por sua maior frequência e distribuição em todo o período de avaliado. A estes seguiram-se os sorovares Anatum (6,2%), Infantis (5,3%), Schwarzengrund (4,7%), Enteritidis (4,2%), Brandenburg (3,9%), Rissen (0,8%), Minnesota (0,6%), London (0,5%), Bredeney e Give (0,3%).

Carneiro et al., (2003), Almeida et al., (2003) e Bello-Pérez (1993), apontam os embutidos como importantes fontes de *Salmonella*, como salsicha e lingüiças, por serem preparadas com carne fresca ou devido ao fato de que as mesmas não passam pelo processo de cocção. Ainda Bello-Perez (1993) obteve índice de 30% e de 33% de isolamento de *Salmonella* a partir de lingüiças e salsichões no México. Escartin et al (1999), no mesmo país, encontraram 88,3% dos embutidos contaminados por *Salmonella*. Na Itália, Giovannini et al., (2004), de um total de 595 amostras de produtos suínos, 58 (9,7%) estavam contaminados com *Salmonella*. 40 (17,6%) das 227 lingüiças frescas, 9 (8,9%) das 101 lingüiças secas e 9 (5%) das 180 carnes frescas foram positivas para *Salmonella* sp. destacando-se *Salmonella* ser. Typhimurium por sua frequência (35,5%).

Percentuais inferiores foram obtidos por Chaves et al., (2000) no Rio de Janeiro, 10% das amostras de lingüiça frescal; Tavechio et al., (2002) em São Paulo, 5% de isolamento a partir de salsicha; Lobo et al., (2001) encontraram o mesmo índice em salames coloniais no Rio Grande do Sul e Lirio et al., (1999) em São Paulo 10% em lingüiça crua. Trindade et al., (2004), que avaliaram 70 amostras de derivados cárneos comercializados na cidade de Pelotas (RS) isolaram *Salmonella* spp. em 7,14% com uma maior incidência em lingüiça de carne suína frescal. Já Salvatori; Bessa e Cardoso, (2003) obtiveram resultados diferentes dos encontrados neste estudo, verificaram ausência de *Salmonella* spp. na avaliação microbiológica de 93 amostras de embutidos frescos e maturados preparados com carne suína, coletadas em estabelecimentos comerciais do mercado público de Porto Alegre.

Salmonella ser. Typhimurium é considerado um das principais sorovares envolvidos em casos de salmonelose em animais e no homem. No Brasil apresenta-se como um dos principais sorotipos em isolados de animais (especialmente suínos) e alimentos para consumo humano (PEREIRA, et al., 2007).

De acordo com estudos realizados em 2008 nos E.U.A. (CDC, 2009), entre os 6750 casos de *Salmonella* isolados, identificados e sorotipados pelos laboratórios associados ao FoodNet, 10 sorovares foram responsáveis por 73% das infecções de transmissão alimentar no homem, destacando-se em maior frequência o sorovar Enteritidis, seguido de Typhimurium, Newport; Javiana; Saintpaul; *Salmonella* I 4, [5], 12: i: -; Muenchen; Heidelberg; Montevideu e Braenderup. O estudo comparou ainda os resultados obtidos dos 10 sorovares mais incidentes, com os observados nos 3 anos anteriores, encontrando aumento para incidência de *Salmonella* ser. Enteritidis de 19%, *Salmonella* ser. Saintpaul 182% e diminuição para o sorotipo Heidelberg de 28%. A incidência dos outros sete sorovares não se alterou significativamente.

Nos países desenvolvidos, *Salmonella* ser. Typhimurium e *Salmonella* ser. Enteritidis

destacam-se como os mais freqüentes em casos de infecção alimentar (VELGE; CLOECKAERT; BARROW, 2005; CDC, 2004; RIBOT et al., 2002; THRELFALL, 2000). Particularmente no Brasil, estes sorovares encontram-se entre os mais freqüentemente isolados nas duas últimas décadas, sendo notória sua participação em isolados de fonte humana em surtos de origem alimentar (GEIMBA; TONDO; BRANDELLI, 2005; GUIMARÃES et al., 2001).

Segundo Weill et al. (2006), de um total de 168.034 isolados de *Salmonella* oriundos de seres humanos relatados pelo NRC-Salm na França de 1993 a 2003 35% e 32,5% pertenciam aos sorotipos Enteritidis e Typhimurium, respectivamente, sendo que, nos anos de 1995 e 1997, o sorovar Typhimurium foi o mais freqüente. Resultados semelhantes foram descritos por Fisher (2004).

Para Loureiro et al. (2010) o sorovar Enteritidis tem sido motivo de preocupação para as autoridades em saúde, pois é o sorovar mais comum em infecções humanas na África, Ásia, Europa e América Latina e Caribe nos últimos anos. Os trabalhos de Souza; Magnani e Oliveira (2010); Ribeiro et. al. (2008); Silva e Duarte (2002) reforçam ser a *Salmonella* ser. Enteritidis um dos principais sorotipos isolados tanto em humanos quanto em animais. Segundo o CDC (2009), a proporção de *Salmonella* ser. Enteritidis aumentou acentuadamente entre 1980 e 1995 nos E.U.A., mas declinou 30% entre 1996 e 2006, entretanto seus índices ainda são alarmantes.

As diferenças nos percentuais podem ser explicadas por um dado epidemiológico importante sobre a *Salmonella*, que é o surgimento e subsequente desaparecimento de alguns sorovares em determinadas localidades (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

4.2 Resistência Antimicrobiana em *Salmonella*

A resistência antimicrobiana, considerada o grande desafio à Saúde Pública na atualidade, tem sido amplamente estudada em todos os gêneros bacterianos. Seu monitoramento fornece dados que servirão de suporte para políticas públicas, além de servirem de base para escolha adequada de medicamentos para o tratamento de enfermidades tanto humanas quanto veterinárias (DROPA, 2006; SILVA, 2008).

Grande parte desta resistência tem sido associada ao uso de drogas antimicrobianas em animais destinados a alimentação humana, sendo que o principal fator de risco esta na utilização não clínica, (promotores de crescimento ou profilático de doenças). As bactérias selecionadas no reservatório animal podem atingir a população humana de várias formas: contaminação de fontes hídricas, efluentes de granjas, contaminação ambiental, ambiente do abatedouro, etc., e principalmente via alimentação (SOUZA; MAGNANI; OLIVEIRA, 2010; VAZ, 2009; SILVA; DUARTE, 2002).

De acordo com a terminologia estabelecida pelo Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI, incluem na categoria de resistentes, os isolados bacterianos que apresentam crescimento *in vitro* nas concentrações séricas estabelecidas para os antimicrobianos (CLSI, 2010).

O antibiograma ou teste de susceptibilidade aos antimicrobianos (TSA) consiste na determinação “*in vitro*” da sensibilidade frente a um grupo de antimicrobianos (VAZ, 2009).

O programa de monitoramento da resistência bacteriana aos antimicrobianos foi estabelecido pelo Laboratório de Referência Nacional de Enteropatógenos Bacterianos / Laboratório de Enterobactérias / IOC / FIOCRUZ, que além de suas atividades de pesquisa, como rotina em enteropatógenos, na década de 90 com a reintrodução da cólera estendeu suas

atividades para outros enteropatógenos.

Tem como objetivos principais monitorar indiretamente o consumo de antimicrobianos utilizados em atividades profiláticas e terapêuticas, verificar os níveis de resistência aos antimicrobianos e quimioterápicos em microrganismos isolados de diferentes fontes e regiões, estudar a associação entre consumo e resistência e para identificar as principais vias de transmissão da resistência aos antimicrobianos e áreas para futuras investigações científicas e de fortalecimento da vigilância.

Assim, dada a relevância da correlação entre os agentes antimicrobianos empregados no tratamento humano de infecções e aqueles de uso na produção animal, a suscetibilidade aos antimicrobianos através da técnica de difusão por disco foi realizada empregando diferentes fármacos, sendo um grupo representado por aqueles amplamente utilizados do passado até os dias atuais e outro, abrangendo os antimicrobianos considerados mais recentes.

Dentro deste Programa de Monitoramento da Resistência aos Antimicrobianos, no presente trabalho utilizou-se como critério a seleção de cerca de 20% das amostras isoladas a partir de alimentos, para a determinação do perfil de suscetibilidade a drogas. Dessa forma, em uma primeira etapa foram selecionadas no banco de dados, 342 das 1737 (20,5%) cepas identificadas no período de janeiro 2005 a dezembro de 2009 e que foram anteriormente submetidas ao TSA. Dando continuidade e tendo em vista o período de vigência deste trabalho, em uma segunda etapa foram analisadas 15 (17,24%) das 87 cepas identificadas a partir de produtos de origem suína, no período de janeiro a junho de 2010, totalizando 357 (19,57%) das 1824 cepas objeto deste estudo (Tabela 4).

Tabela 5 - Distribuição das cepas de *Salmonella* spp. isoladas de produtos de origem suína no período de janeiro de 2005 a junho de 2010, selecionadas para o teste de susceptibilidade aos antimicrobianos (TSA).

Ano	Total de Cepas	TSA	%
2005	382	91	23,82
2006	392	98	25,00
2007	281	69	24,56
2008	213	37	17,37
2009	469	47	10,02
2010	87	15	17,24
Total	1824	357	19,57

Das 357 amostras analisadas, 257 (71,99%) foram resistentes a uma ou mais drogas, destas 153 (59,53%) apresentaram perfil de multirresistência (resistência a duas ou mais classes de antimicrobianos) (tabela 6), destacando-se quatro cepas pertencentes ao sorovar Typhimurium, isoladas de alimentos industrializados (produtos de venda), provenientes da região sul do Brasil, no ano de 2008. Duas dessas cepas apresentaram resistência a sete classes de antimicrobianos com resistência a oito (AMP,CHL,TCY,CEP,GEN,NAL,SXT,NIT) e sete (AMP,CHL,TCY,GEN,NAL,SXT,NIT) drogas; esta última ainda apresentou grau intermediário de suscetibilidade a CEP. As outras duas cepas apresentaram resistência a seis classes (AMP,CHL,TCY,GEN,NAL,NIT e AMP,CHL,TCY,GEN,NAL,SXT) (dados não computados em tabelas).

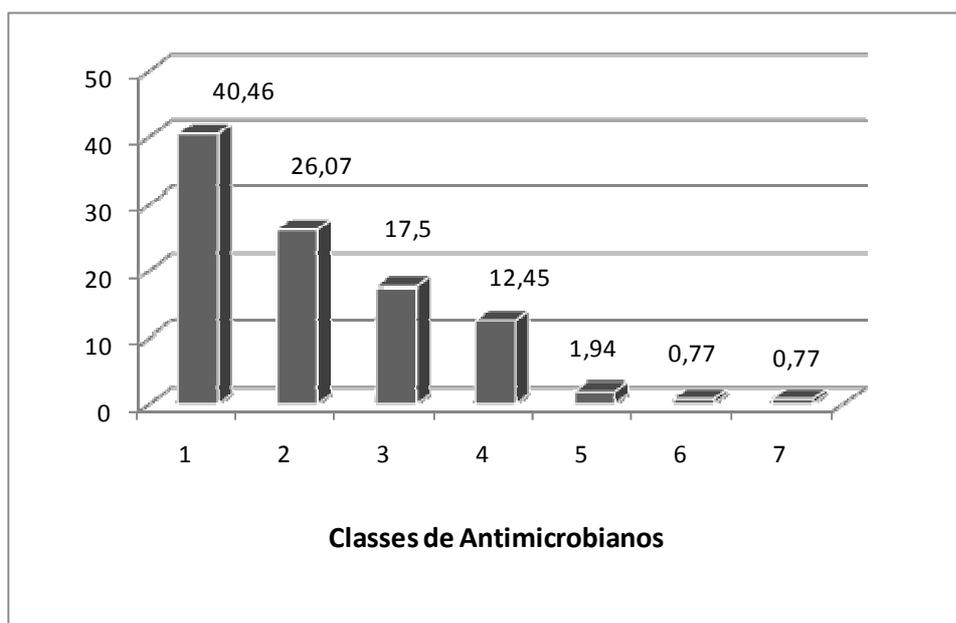
Estes dados, balizados pelos encontrados na literatura apontam uma característica importante do sorovar Typhimurium que é o aparecimento de fenótipos resistentes a múltiplos fármacos (CDC, 2009; VAZ, 2009; TESSMANN, et al., 2008; WEILL, et al., 2006; TAVECHIO et al., 2002).

Analisando ainda a tabela 6 e gráfico 3 aponta-se um problema que tem afligido a sociedade médica contemporânea: a emergência de linhagens multirresistentes a drogas antimicrobianas. Um dado alarmante foi que das 257 cepas resistentes, 41 (15,9%) foram resistentes a quatro ou mais classes de antimicrobianos (gráfico 3). Resultados superiores foram encontrados por Spricigo et al., (2008) em amostras de lingüiça frescal onde 20% das cepas foram resistentes a quatro ou mais antimicrobianos.

Tabela 6 - Distribuição das cepas de *Salmonella* spp. de acordo com a resistência a diferentes classes de antimicrobianos no período de janeiro de 2005 a junho de 2010.

Nº Classes	2005	2006	2007	2008	2009	2010	Total
1	25	29	31	9	9	1	104
2	21	14	10	3	12	7	67
3	16	12	9	4	3	1	45
4	8	7	9	1	7	-	32
5	1	-	1	1	2	-	5
6	-	-	-	2	-	-	2
7	-	-	-	2	-	-	2
Total	71	62	60	22	33	9	257

Gráfico 3 - Percentuais de cepas de *Salmonella* spp. resistentes a diferentes classes de antimicrobianos no período de janeiro de 2005 a junho de 2010



Particularizando por sorovares, observou-se que, das 85 cepas de *Salmonella* ser. Typhimurium analisadas, 78 (91,76%) apresentaram resistência a uma ou mais drogas, e entre estas, 64 cepas (75,3%) apresentaram multirresistência a ≥ 2 classes de drogas (tabela 6).

Tabela 7 - Frequência da suscetibilidade dos sorovares mais frequentes de *Salmonella* de acordo com o número de classes de antimicrobianos.

Sorovares	S	I	1	2	3	4	5	6	7	Total
Typhimurium	5	2	14	15	24	18	3	2	2	85
Derby	2	1	21	16	5	2	0	1	–	48
Enteritidis	1	1	5	19	–	–	–	–	–	26
Panama	4	5	8	2	3	6	1	–	–	29
Infantis	12	11	13	3	–	–	–	–	–	39
Anatum	5	3	3	4	2	–	–	–	–	17

S – Cepas sensíveis a todos os antimicrobianos testados

I – Cepas que apresentaram grau intermediário de suscetibilidade a um ou mais antimicrobianos

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 – Classes de antimicrobianos

Em reportagem divulgada pelo site do Jornal Nacional (GLOBO.COM, 2010), sobre a determinação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) de permitir a venda de antibiótico apenas com retenção da receita para evitar a automedicação e assim combater a problemática da multirresistência antimicrobiana (BRASIL - RDC nº 44, 2010), uma nota chama a atenção. - O infectologista Mozart de Castro Neto, presidente da sociedade mineira de controle de infecção hospitalar, cita: “*A dificuldade em tratar muitas dessas infecções nos tem feito optar por drogas mais caras, com toxicidade maior, com necessidade de internação do paciente para tomar o antibiótico na veia ou no músculo, porque nós não temos mais opções de tratar o paciente por via oral*”. Este tipo de “desabafo” retrata a “guerra” cotidiana travada pelos profissionais de saúde em todo mundo, uma vez que a ocorrência de cepas resistentes / multirresistentes limita as opções terapêuticas no âmbito da medicina humana mas também na medicina veterinária (SOUZA; MAGNANI; OLIVEIRA, 2010). Legislações como a RDC nº 44 apontam para uma tendência global de tentativa de contornar estes tipos de infecções multirresistentes.

Além disso, o custo financeiro de uma terapia atrelada a microrganismos resistentes é muito grande. Estima-se que, nos Estados Unidos, o custo com resistência bacteriana está em torno de 4 a 5 bilhões de dólares anualmente. Bactérias resistentes geram novas consultas, novos exames diagnósticos, novas prescrições, sem contar a provável internação e ocupação de leitos hospitalares (FIOL et al, 2010; CDC - ANTIMICROBIAL RESISTANCE, 2011).

Muitos fatores têm contribuído para o surgimento acelerado de bactérias multirresistentes, todavia a pressão seletiva imposta pela quantidade e diversidade de agentes antimicrobianos (utilizados na agricultura, na medicina humana e prática veterinária) tem sido apontada como a principal causa do problema. Além da seleção de cepas impostas pelo uso irracional de antimicrobianos tem - se o agravante da transferência de resistência-(TENOVER, 2006 apud DAMASCENO, 2010; CDC - ANTIMICROBIAL RESISTANCE, 2011).

Segundo Bogaard e Stobberingh (2000) a introdução de um antibiótico não atua somente selecionando microrganismos patogênicos durante o tratamento de uma infecção. A pressão seletiva é também imposta a bactérias comensais, que por sua vez, constituem um

potencial reservatório de genes de resistência para bactérias patogênicas. Outro aspecto a ser considerado é a transferência via alimentação. Bactérias resistentes comensais de animais podem representar um importante foco de “contaminação” para os alimentos e assim atingirem o trato intestinal de seres humanos, disseminando seus genes de resistência.

Segundo comentários dos autores, em países que utilizam ou utilizaram a avoparcina (um antibiótico glicopeptídeo, como a vancomicina) como promotor de crescimento, é comum encontrar resistência à vancomicina em enterococos intestinais, não somente em animais expostos, mas também na população humana fora dos hospitais. Outro exemplo citado é a utilização de nourseothricin e apramicina (utilizados apenas em animais). Após a introdução destes antimicrobianos, foram encontrados genes de resistência, não apenas em bactérias de animais, mas também na microbiota comensal do homem e em patógenos zoonóticos como as salmonelas, e em microrganismos estritamente humanos, como a *Shigella*. Esses achados evidenciam a propagação clonal de cepas resistentes e também o fenômeno da transferência de genes de resistência entre as bactérias de animais e humanos.

Corroboram com a explicação os resultados observados na União Européia após a proibição da avoparcina. Em vários países foi constatado uma diminuição significativa da prevalência de enterococos resistentes à vancomicina na carne e derivados de origem animal, e em amostras de fezes de animais.

Na tabela 8, gráfico 4, são apresentados os percentuais de resistência e suscetibilidade intermediária dos seis sorovares mais freqüentes (Typhimurium, Derby, Enteritidis, Panama, Infantis e Anatum), frente às 11 drogas antimicrobianas. Elevados índices de resistência foram obtidos particularmente a tetraciclina, nitrofurantoina, ácido nalidixico, ampicilina e cloranfenicol, porém com variações em função do sorovar. Em *Salmonella* ser. Typhimurium, destaca-se a resistência a Tetraciclina (76,47%), Ampicilina (44,71%), Ácido Nalidíxico (43,53%), Nitrofurantoina (42,35%), Gentamicina (27,06%), Cloranfenicol (17,65%) e Sulfametoxazol-Trimetoprim (17,65%) destacando-se suscetibilidade intermediária a ciprofloxacina (1,08%). Por outro lado nenhuma das cepas apresentou resistência a Ceftriaxona e Imipenem (tabela 8, gráfico 4). Resultados semelhantes foram observados por Pereira, et al. (2007).

Das 48 cepas de *Salmonella* ser.Derby analisadas, 24 (50,00%) apresentaram multirresistência a ≥ 2 classes de drogas e apenas 2 cepas (4,17%) foram sensíveis a todos os antimicrobianos testados. Destaca-se neste sorovar elevado percentual de resistência a TCY (75%) e NIT (31,25%) bem como 2,08% de cepas resistentes e grau intermediário para IMP, CRO e CIP. Reveste-se de importância a presença de *Salmonella* resistentes às cefalosporinas, incluindo aquelas de 3^a geração (CRO) bem como às fluoroquinolonas, drogas empregadas no tratamento da salmonelose invasiva no homem, devendo portanto ser considerado um alerta, em face às dificuldades de seu uso terapêutico empírico.

Salmonella ser. Enteritidis com exceção de resistência a NAL (73,8%) e NIT (92,31%) e grau intermediário a AMP, CEP e NIT, destacou-se por apresentar sensibilidade aos demais antimicrobianos analisados.

O quarto sorovar de maior ocorrência, *Salmonella* ser.Panama apresentou resistência para AMP (27,59%), CHL (27,59%), NAL (27,59%), NIT (51,72%), TCY (31,03%) e SXT (6,90%), apontando-se modelos de multirresistência a quatro (AMP, CHL, TCY, NIT) e cinco (AMP, CHL, TCY, NAL, NIT) classes de antimicrobianos.

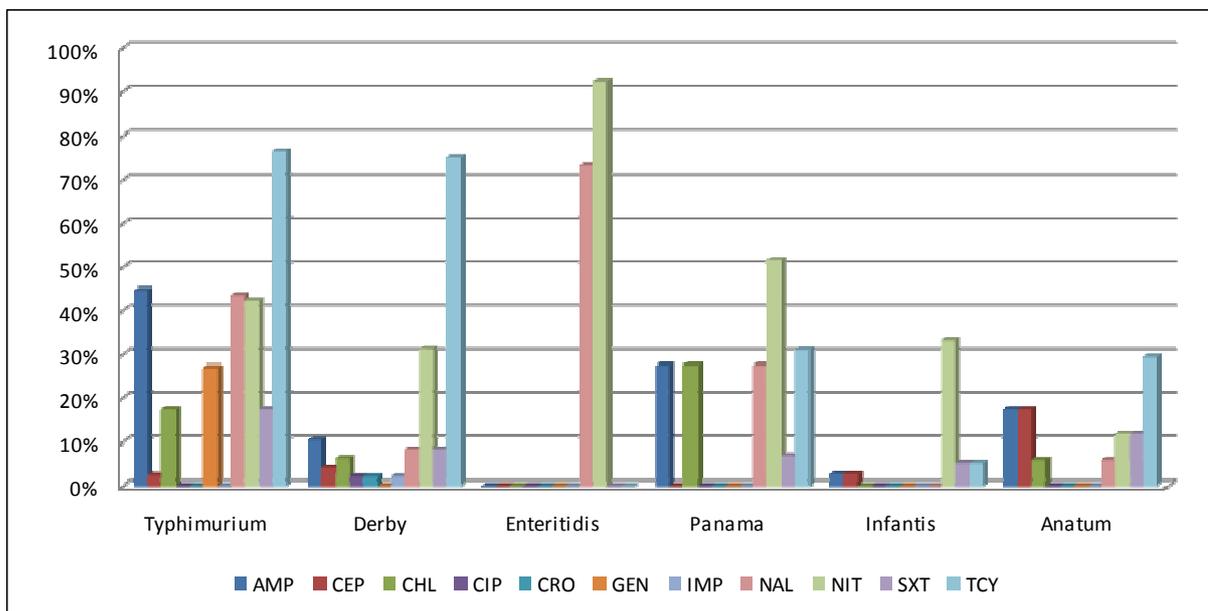
Tabela 8 – Comportamento dos seis sorovares mais frequentes de *Salmonella* frente a diferentes drogas antimicrobianas no período de janeiro de 2005 a junho de 2010.

	Typhimurium		Derby		Enteritidis	
	%(R)	%(I)	%(R)	%(I)	%(R)	%(I)
AMP	44,71	1,18	10,42	4,17	0,00	3,85
CEP	2,35	7,06	4,17	0,00	0,00	3,85
CHL	17,65	18,82	6,25	6,25	0,00	0,00
CIP	0,00	1,18	2,08	2,08	0,00	0,00
CRO	0,00	0,00	2,08	2,08	0,00	0,00
GEN	27,06	1,18	0,00	0,00	0,00	0,00
IMP	0,00	0,00	2,08	2,08	0,00	0,00
NAL	43,53	9,41	8,33	6,25	73,08	0,00
NIT	42,35	15,29	31,25	18,75	92,31	3,85
SXT	17,65	1,18	8,33	4,17	0,00	0,00
TCY	76,47	1,18	75,00	12,50	0,00	0,00

	Panama		Infantis		Anatum	
	%(R)	%(I)	%(R)	%(I)	%(R)	%(I)
AMP	27,59	0,00	2,56	0,00	17,65	0,00
CEP	0,00	0,00	2,56	0,00	17,65	0,00
CHL	27,59	3,45	0,00	2,56	5,88	0,00
CIP	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
CRO	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
GEN	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
IMP	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
NAL	27,59	24,14	0,00	2,56	5,88	0,00
NIT	51,72	10,34	33,33	23,08	11,76	23,53
SXT	6,90	0,00	5,13	0,00	11,76	0,00
TCY	31,03	10,34	5,13	7,69	29,41	0,00

AMP – Ampicilina **CEP** – Cefalotina **CHL** – Cloranfenicol
CIP – Ciprofloxacina **CRO** – Ceftriaxona
GEN – Gentamicina **IMP** – Imipenem
NAL – Ácido Nalidíxico **NIT** - Nitrofurantoina
SXT – Sulfametoxazol-Trimetoprim **TCY** – Tetraciclina.

Gráfico 4 - Percentual de resistência antimicrobiana nos seis sorovares mais frequentes de *Salmonella* isolados de alimentos de origem suína no período de (janeiro de 2005 a junho de 2010).



Em termos globais, na tabela 9, gráfico 5, ao analisar o comportamento das cepas de *Salmonella* spp. frente aos diferentes antimicrobianos e considerando-se unicamente as cepas resistentes, observou-se que a maior taxa recaiu sobre TCY (42,82%), seguido de NIT (39,50%), NAL (25,21%), AMP (17,70%), SXT (11,55%), CHL (9,58%), GEN (6,44%) e CEP (2,82%).

Resultados semelhantes foram encontrados por Spricigo et al., (2008) em amostras de lingüiça fresca no município de Lages - SC para TCY (41,67). Segundo o autor, o alto percentual de resistência encontrado para tetraciclina e sulfonamida (45%) poderia ser explicado pelo uso freqüente destes antimicrobianos nos animais criados para a produção de alimentos.

A freqüência elevada de resistência para tetraciclina é um resultado presumível, pois a tetraciclina é um dos mais antigos antimicrobianos usados tanto para tratamento, como para promotor de crescimento (FUZIHARA, 2001). Porém, no Brasil, as tetraciclinas foram banidas em 1998 como aditivos alimentares em rações de animais, mas continuam sendo utilizadas na terapeutica (ROSSI, 2005).

CRO, IMP e CIP, apresentaram percentual de resistência menor que 1%. Esta resistência pontual para CRO, IMP e CIP se deve a duas cepas de *S. Derby* (AMP, CEP, CRO, IMP, NIT) isoladas de toucinho, (CIP, NAL) isolada de carne suína, ambas no ano de 2006 na região Sul do país e uma cepa de *S. Schwarzengrund* (AMP, CEP e CRO) isolada de lingüiça proveniente do centro-oeste do Brasil.

A resistência aos betalactâmicos é primariamente causada pela produção de β -lactamases adquiridas. Mais de 340 β -lactamases tem sido descritas e muitas vêm sendo identificadas em *Salmonella* sendo motivo de preocupação face ao emprego destas drogas no tratamento da salmonelose em crianças (BUSH, 2001).

O aumento da incidência de cepas resistentes às quinolonas de primeira geração, como ácido nalidíxico, é preocupante considerando que esse fato pode estar relacionado à redução da suscetibilidade às fluorquinolonas, como a ciprofloxacina, e ao possível surgimento de

resistência a esses antimicrobianos (HOOPER, 2001).

Durante anos, ampicilina, sulfametoxazol-trimetoprim e cloranfenicol foram drogas de escolha no tratamento de infecções graves por *Salmonella*. No entanto, taxas crescentes de resistência a estes agentes reduziram significativamente sua eficácia e, conseqüentemente, fluoroquinolonas e cefalosporinas de amplo espectro passaram a ser administradas nestes casos. Porém, a seleção gradativa de isolados de *Salmonella* resistentes a essas duas classes de antimicrobianos consiste em um importante problema de saúde pública, com implicações no tratamento e prevenção de doenças infecciosas em humanos e animais (MICHAELA, G. B. et al., 2006; CARRAMINÃNA et al., 2004).

Percentuais elevados de resistência a Sulfonamidas (68%), Tetraciclina (60%), Ampicilina (12%), Gentamicina (10%) e Ciprofloxacina (2%) foram obtidos por Silva (2008) em amostras de *Salmonella* isoladas de suínos no Mato Grosso. Segundo o autor, o predomínio de amostras resistentes à tetraciclina, estreptomicina e sulfonamidas está provavelmente relacionado a ampla utilização desses fármacos nesta espécie animal.

Gebreyes et al. (2000) avaliaram 1.257 cepas de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* isoladas de suínos na Carolina do Norte - EUA, encontrando (84,2%) de resistência à tetraciclina, (47,6%) ampicilina, (36,7%) piperacilina, a combinação de amoxicilina e ácido clavulânico (32%) e cloranfenicol (30,5%). A frequência de resistência à gentamicina, cefalotina e trimetoprim-sulfametoxazol foi menor que 3%. Pelo fato do cloranfenicol ser um agente antimicrobiano não utilizado em medicina veterinária há mais de uma década e ainda assim ter apresentado 30,5% de resistência, sugerem os autores uma ligação genética entre a resistência ao cloranfenicol e resistência a outros antimicrobianos.

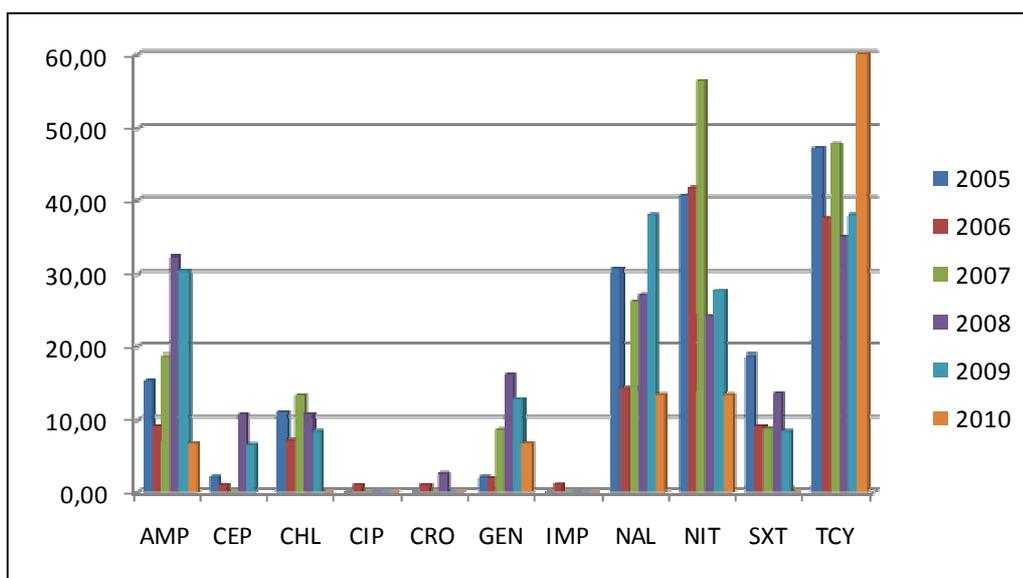
Reveste-se de significância os altos índices de resistência a nitrofurantoina ao longo do período de análise. Este antimicrobiano sofreu proibição para uso veterinário e de seu emprego na alimentação animal através da Instrução Normativa Nº 9 de 27/06/2003 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento-MAPA (Brasil, 2003). Sabe-se que ao reduzirmos a pressão seletiva sobre os microrganismos, através da suspensão de uso de alguns antimicrobianos, vai ocorrendo uma redução gradativa no perfil de resistência àquele fármaco.

Tabela 9 - Frequência e distribuição dos marcadores de resistência nas 357 cepas *Salmonella* spp. provenientes de alimentos de origem suína, analisados no período de janeiro de 2005 a junho de 2010.

Antimicrobianos	Percentuais de Resistência						Total
	2005	2006	2007	2008	2009	2010	
AMP	15,38	9,18	18,84	32,43	30,43	6,67	17,7
CEP	2,25	1,02	0,00	10,81	6,52	ND	2,82
CHL	11,11	7,14	13,24	10,81	8,51	0,00	9,58
CIP	0,00	1,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,28
CRO	0,00	1,02	0,00	2,70	0,00	0,00	0,56
GEN	2,20	2,04	8,70	16,22	12,77	6,67	6,44
IMP	0,00	1,12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,29
NAL	30,77	14,29	26,09	27,03	38,30	13,33	25,21
NIT	40,66	41,84	56,52	24,32	27,66	13,33	39,5
SXT	18,89	9,18	8,82	13,51	8,51	0,00	11,55
TCY	47,19	37,76	47,83	35,14	38,30	60,00	42,82

AMP – Ampicilina CEP – Cefalotina CHL – Cloranfenicol
 CIP – Ciprofloxacina CRO – Ceftriaxona GEN – Gentamicina
 IMP – Imipenem NAL – Ácido Nalidíxico NIT - Nitrofurantoina
 SXT – Sulfametoxazol-Trimetoprim TCY – Tetraciclina. ND - Não Determinado

Gráfico 5 - Frequência dos marcadores de resistência nas cepas de *Salmonella* spp. isoladas de alimentos de origem suína, analisados no período de janeiro de 2005 a junho de 2010.



Foi divulgado pelo site da revista Eurosurveillance (Europe's journal on infectious disease epidemiology, prevention and control), a seguinte nota: "A OMS afirma que, a retirada de antimicrobianos promotores de crescimento, na Dinamarca, reduziu a ameaça de resistência antimicrobiana para a saúde humana".

Segundo a matéria, a OMS (Organização Mundial da Saúde) convocou uma comissão independente e internacional, em novembro de 2002, para avaliar o impacto causado pela retirada de antimicrobianos promotores de crescimento em animais na Dinamarca. Entre outros a comissão avaliou o efeito sobre a eficiência na produção de alimentos de origem animal, a sanidade animal, a segurança alimentar e os preços ao consumidor.

Conforme o texto, a preocupação do governo dinamarquês era de que, a resistência a antimicrobianos em reservatórios de alimentos de origem animal, levaria a problemas clínicos em humanos. Temendo essa associação, o governo como medida de saúde pública e para assegurar a confiança dos consumidores, adotou os princípios exortados pela OMS, para reduzir a necessidade de antimicrobianos em animais e garantir a sua utilização prudente.

Antes do início do programa, a maioria dos suínos e frangos de corte na Dinamarca recebiam drogas, tais como, avilamicina, avoparcina, tilosina, virginiamicina, na alimentação durante toda a vida. Com a adoção do programa, o uso médio destes fármacos baixou para 0,4 dias em frangos de corte (com duração de aproximadamente 42 dias) e 7,9 dias em suínos (com duração de aproximadamente 170 dias). A quantidade de agentes antimicrobianos utilizados nos alimentos para animais diminuiu em 54% entre 1994 e 2001. Essa diminuição não afetou a produção de suínos, que continuou a aumentar, e os efeitos sobre a produção de aves eram pequenos.

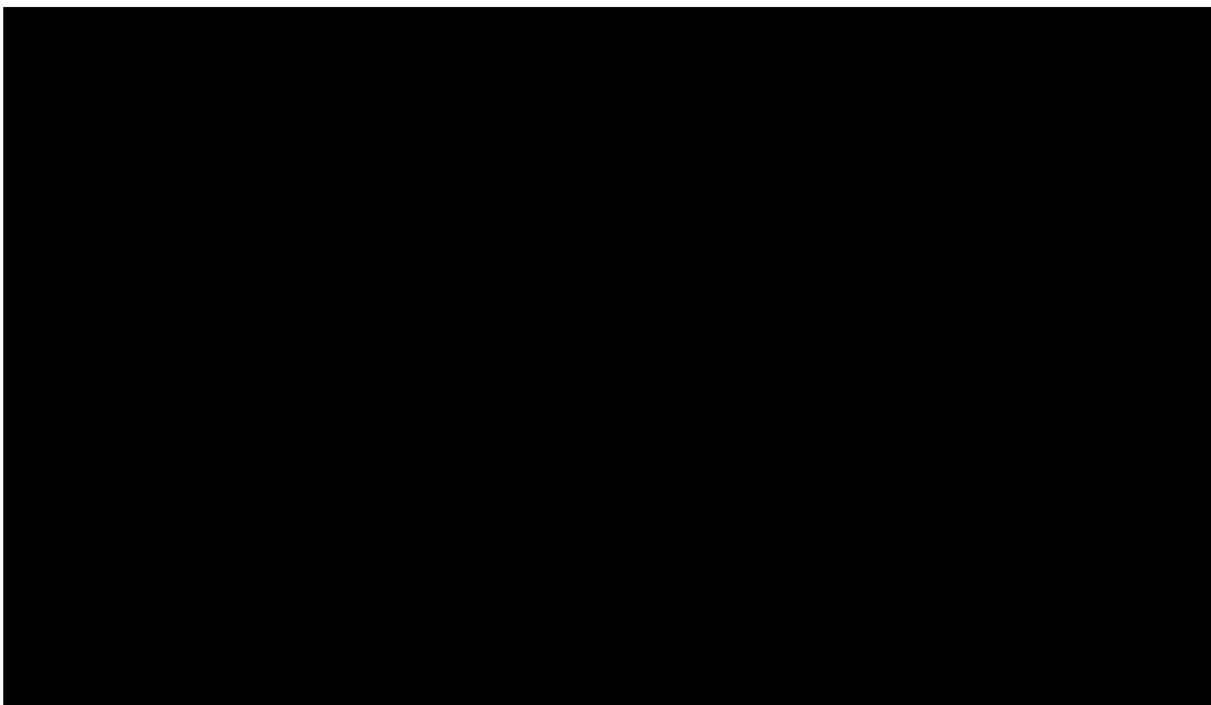
Os dados da vigilância de resistência antimicrobiana dinamarquesa mostraram que, a diminuição do uso de antimicrobianos nos animais reduziu a resistência a avoparcina, avilamicina e estreptograminas em *Enterococcus faecium*. Em isolados de frangos de corte a resistência diminuiu de 60 - 80% (antes da retirada dos antimicrobianos) para apenas 5 - 35% depois. A comissão da OMS considerou que a ameaça da resistência antimicrobiana para a saúde humana tem sido reduzida, e concluiu que o uso de antimicrobianos com o único propósito de promover o crescimento pode ser extinto em países que têm condições semelhantes a Dinamarca (onde os métodos de criação de animais são intensos, os estatutos sanitários são relativamente elevados, e a infra-estrutura e capacidade para monitorar o uso de antimicrobianos e resistência existam) (EUROSURVEILLANCE, 2003).

Pelo exposto comprova-se um dado interessante da literatura: A eficácia dos antimicrobianos varia ao longo do tempo, e de país para país, em resposta aos padrões de uso de antimicrobianos e movimento de organismos entre as comunidades (WHO, 2011).

A presença de cepas resistentes e o risco de que estas se propaguem ao homem através da cadeia alimentar, sublinham a necessidade urgente de controlar o uso de antimicrobianos na indústria pecuária e acompanhar de forma sistemática, por ensaios laboratoriais, o comportamento das salmonelas diante dos diversos agentes antimicrobianos empregados na medicina humana e veterinária.

Em uma etapa posterior foram selecionadas aleatoriamente no banco de dados, 18 cepas para repetição do teste de suscetibilidade a antimicrobianos, correlacionando com os perfis apresentados anteriormente (tabela 9), como uma forma de avaliar a estabilidade de tais marcadores de resistência, tendo-se em conta a estocagem das culturas.

Tabela 10 - Comparação dos fenótipos de resistência em 18 cepas submetidas a repetição do Teste de suscetibilidade aos antimicrobianos



De um modo geral observou-se que apenas uma cepa, *Salmonella* Typhimurium com perfil de multirresistência a AMP,TCY,GEN,NAL manteve o fenótipo original. As demais apresentaram variações R→ S e/ou R→ I.

A perda de resistência em culturas estocadas tem sido atribuída à disposição extracromossômica dos genes que a codificam (AVRIL, 1980), bem como a ausência da pressão seletiva específica no meio de conservação, o que pode implicar em perda ou fragmentação de plasmídios (SAUNDERS, 1984) os quais, por serem elementos extracromossômicos podem ser perdidos espontaneamente em curto espaço de tempo (THRELFALL; FROST, 1990).

Segundo Hooper (2001), as bactérias podem tornar-se resistentes às quinolonas principalmente por meio de mutações nos genes *gyr* e *par*, proporcionando um alvo insensível. Podem ainda apresentar diminuição da incorporação do fármaco, tanto por redução da permeabilidade das porinas quanto por aumento do sistema de efluxo ativo. Outro mecanismo de resistência é a aquisição do gene *qnr*, mediado pelo plasmídeo pMG252 (TRAN & JACOBY, 2002).

A análise das 12 cepas que apresentavam em seu perfil resistência ao ácido nalidíxico revelou que esse marco se manteve estável sugerindo a natureza cromossômica do gene envolvido na resistência a este marco. Entretanto é necessário o uso de métodos de rastreamento mais efetivos e, principalmente técnicas moleculares, como a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) visando determinar a natureza genética da resistência aos antimicrobianos.

5 CONCLUSÕES

Em conformidade com os resultados obtidos e discutidos nesta pesquisa, pode-se concluir que:

- O número de cepas isoladas de diferentes origens (produtos industrializados, inspeção e alimentos envolvidos em surtos) e recebidas pelo LABENT para complementação diagnóstica, reflete falhas na aplicação das análises de perigos e pontos críticos de controle bem como nas Boas Práticas de Fabricação;
- Sob o ponto de vista da região geográfica, o maior número de cepas recebidas para conclusão diagnóstica foi proveniente da região sul do país, onde estão localizados importantes pólos suínícolas, da mesma forma que evidencia maior empenho por parte dos órgãos fiscalizadores e empresas quanto a segurança do consumidor;
- A elevada ocorrência de *Salmonella* spp. oriundas de produtos de venda (industrializados) reforça a necessidade de medidas sanitárias mais efetivas;
- A elevada frequência (35%) de cepas isoladas de embutidos apontam que produtos derivados de carne intensamente manipulados, podem se tornar importantes veículos para disseminação de *Salmonella* spp;
- A variedade de sorovares identificados nos alimentos de origem suína evidencia que esta espécie animal é mais uma fonte de infecção e veiculador, através de seus produtos, de salmonelas zoonóticas.
- A elevada frequência do sorovar Typhimurium, relevante por seu envolvimento em doença no homem, sugere um potencial problema de segurança alimentar e, portanto, para a saúde pública;
- Embora em pequeno número, a presença de cepas resistentes a fluorquinolonas e cefalosporinas de 3^a geração alertam para uma condição de risco à saúde pública, tendo em vista as possíveis implicações no tratamento de quadros clínicos graves de salmonelose;

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presença de *Salmonella* em produtos de origem suína é preocupante, pois além de constituir-se um risco a saúde pública consumidora, pode criar entraves a comercialização dos produtos para países que apresentam controle do microrganismo.

Além disso, os elevados percentuais de resistência aos antimicrobianos obtidos na presente avaliação conduzem para uma reflexão sobre o uso indiscriminado de fármacos em medicina humana e veterinária, reforçando a necessidade de monitoramento contínuo para que sejam planejadas ações preventivas e reguladoras junto aos Órgãos competentes.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIPECS - Relatório 2008. **ABIPECS – Relatórios anuais**. São Paulo, 2008. Disponível em: <<http://www.abipecs.org.br/pt/relatorios.html>>. Acesso em: 25 jan. 2011.

ABIPECS - Relatório 2009. **ABIPECS – Relatórios anuais**. São Paulo, 2009. Disponível em: http://www.abipecs.org.br/uploads/relatorios/relatorios-associados/ABIPECS_relatorio_2009_pt.pdf. Acesso em: 20 jan. 2011.

ALMEIDA, E. S. F.; CIGARINI, C. O.; BORGES, N. F.; DELMONDES, E. C.; OZAKI, A. S.; SOUZA, L. C. Pesquisa de *Salmonella* spp. em carcaças de frango (*Gallus gallus*), comercializados em feira livre ou em supermercados no município de Cuiabá, MT, Brasil. **Higiene Alimentar**, v.17, n.110, p.74-79, 2003.

AVRIL, J. L. Que sais Je? Les antibiotiques. **Paris Press Universitaires de France**. p. 53-77, 1980.

BAGER, F. Y. R.; HELMUTH, R. Epidemiology of resistance to quinolones in *Salmonella*. **Veterinary research**. v.32, p.285-90, 2001.

BAHNSON, P. B.; DAMMAN, D. J.; ISAACSON, R. E.; MILLER, G. Y.; WEIGEL, R. M.; TROUTT, H. F. Prevalence and serovars of *Salmonella enterica* isolated from ileocolic lymph nodes of market pigs reared in selected Midwest US swine herds. **Journal of Swine Health and Production**, p.182-188, jul./ago., 2006.

BELLO-PÉREZ, L. A. Sorotipos de *Salmonella* identificados em chorizos que se expendem em Acapulco, Guerrero, México. **Revista Latino-Americana de Microbiologia**, v.35, p.377-381, 1993.

BERENDS, B. R.; URLINGS, H. A. P.; SNIDJERS, J. M. A. Identification and quantification of risk factors in animal management and transport regarding *Salmonella* spp. in pigs. **International Journal Food Microbiology**, v.30, p.37-53, 1996.

BERTOLONI, W. Qualidade e segurança no processamento de carne de suínos. **Anais - Seminário internacional sobre produção, mercado e qualidade da carne de suínos**. Florianópolis, SC. maio, 2002.

BESSA, M. C.; MARISA, C.; MARISA, C. Prevalência de *Salmonella* sp em Suínos Abatidos em Frigoríficos do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.24, p.80-84, abr./jun., 2004.

BIER, O. **Microbiologia e Imunologia**. 24^a ed. São Paulo: Melhoramentos. São Paulo, 1985. 1234 pp.

BOGAARD, A. E. V. D.; STOBBERINGH, E. E. Epidemiology of resistance to antibiotics: Links between animals and humans. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.14, n.4, p.327-335, 2000.

BORDIN, L. C.; KICH, J. D. Utilização de antimicrobianos na cadeia produtiva de suíno e aves. **Suinocultura Industrial**, v.30, n.209, p.12-13, 2007.

BOROWSKY, L. M.; BESSA, M. C.; CARDOSO, M. I.; AVANCINI, C. A. M. Sensibilidade e resistência de amostras de *Salmonella* Typhimurium isoladas de suínos abatidos no Rio Grande do Sul / Brasil frente aos desinfetantes químicos quartenários de amônio e iodoform. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, p.1474-1479, set./out., 2006.

BOTTELDOORN, N.; HERMAN, L.; RIJSENS, N.; HEYNDRICKX, M. Phenotypic and molecular typing of *Salmonella* strains reveals different contamination sources in two commercial pig slaughterhouses. **Applied and Environmental Bacteriology**, v.70, p.5305-5314, 2004.

BRASIL. RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Dispõe sobre o regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 2 jan. 2001.

BRASIL. RDC nº 44, de 26 de outubro de 2010. Dispõe sobre o controle de medicamentos à base de substâncias classificadas como antimicrobianos, de uso sob prescrição médica, isoladas ou em associação e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 26 out. 2010.

BRENNER, F. W.; VILLAR, R. G.; ÂNGULO, F. J.; TAUXE, R.; SWAMINATHAN, B. *Salmonella* nomenclature. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 38, n.7, p.2465-2467, jul., 2000.

BURTON, G. R. W.; ENGELKIRK, P. G. **Microbiologia para ciências da saúde**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, p.426, 2005.

BUSH, K. New β -lactamases in gram-negative bacteria: diversity and impact on the selection of antimicrobial therapy. **Clinical Infectious Diseases**. v. 32, p.1085-1089. 2001

MICHAELA, G. B.; BUTAYE, P.; CLOECKAERT, A.; SCHWARZA, S. Genes and mutations conferring antimicrobial resistance in *Salmonella*: an update. **Microbes and Infection**. v. 8, p.1898-1914, 2006.

CARDOSO, M. Doenças transmitidas por alimentos de origem suína. **I Simpósio UFRGS sobre Manejo, Reprodução e Sanidade Suína**. Porto Alegre: UFRGS, p.92-103, 2006.

CARDOSO, M. O que representam os suínos na transmissão de zoonoses para humanos? **Acta Scientiae Veterinariae**, 37(Supl 1), p.81-89, 2009.

CARDOSO, A. L. S. P.; TESSARI, E. N. C. *Salmonella* na segurança dos alimentos. **Biológico**, São Paulo, v.70, n.1, p.11-13, jan./jun., 2008.

CARNEIRO, M. R. P.; OLIVEIRA, S. S.; RODRIGUES, D. P.; ARAGÃO, A. C. C.; SILVEIRA, B. D. S.; CÂNDIDO, A. L. Isolamento e identificação de *Salmonella enteritidis* em surto de doença gastroentérica na cidade de Aracaju, SE, Brasil. **Higiene Alimentar**, v.17, p.34-35, 2003.

CARRAMINÃNA, J. J. CARMINA, R.; AGUSTÍN, I.; HERRERA, A. High prevalence of multiple resistance to antibiotics in *Salmonella* serovars isolated from a poultry slaughterhouse in Spain. **Microbiologia Veterinária**, v.104, p.133-139, nov., 2004.

CARNE SUÍNA BRASILEIRA – Padrões de Consumo. **Carne suína brasileira** Disponível em: <<http://www.carnesuinabrasileira.org.br/nutrientes.html>>. Acesso em: 24 jan. 2011.

CARVALHO, F. C. T.; BARRETO, N. S. E.; REIS, C. M. F.; HOFER, E.; VIEIRA, R. H. S. F. Resistência a antimicrobianos de cepas de *Salmonella* isoladas de água, sedimento e camarão de quatro fazendas de carcinicultura do Estado do Ceará. **Simpósio de resistência bacteriana aos antimicrobianos**, Rio de Janeiro, Resumos, v. 3, p. 43. 2006.

CASTAGNA, S. M. F.; SCHWARZ, P.; CANAL, C. W.; CARDOSO, M. R. I. Prevalência de suínos portadores de *Salmonella* sp. ao abate e contaminação de embutidos tipo frescal. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32, n. 2, p. 141-147, 2004.

CDC - ANTIMICROBIAL RESISTANCE. **Centers for Disease Control and Prevention – CDC**, Atlanta, U.S.A., Disponível em: <<http://www.cdc.gov/drugresistance/about.html>>. Acesso em: 3 jan. 2011.

CDC - Preliminary FoodNet data on the incidence of infection with pathogens transmitted commonly through food --- 10 States, 2008. **Centers for Disease Control and Prevention – CDC**, Atlanta, U.S.A., abr., 2009. Disponível em: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5813a2.htm?s_cid=mm5813a2_e>. Acesso em: 28 jan. 2011.

CDC. *Salmonella* Surveillance: Annual Summary, 2003. **Centers for Disease Control and Prevention – CDC**, Atlanta, U.S.A., US Department of Health and Human Services. 2004.

CDC - *Salmonella*. **Centers for Disease Control and Prevention – CDC**, Atlanta, U.S.A., Disponível em: <<http://www.cdc.gov/salmonella/>>; <<http://www.cdc.gov/salmonella/general/diagnosis.html>>; <<http://www.cdc.gov/salmonella/general/index.html>>; <<http://www.cdc.gov/salmonella/general/technical.html>>. Acesso em: 28 jan. 2011.

CHAVES, G. M. C.; GONÇALVES, P. M. R.; FRANCO, R. M.; CARVALHO, J. C. A. P. Avaliação bacteriológica de lingüiça frescal suína comercializada no município do Rio de Janeiro, RJ. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 14, p. 48-52, jun. 2000.

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**: M100-S20, 2010.

COSTA, G. A.; HOFER, E. **Isolamento e identificação de enterobactérias**. Monografia Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. 120pp. 1972.

CRUMP, J. A.; LUBY, S. P.; MINTZ, E. D. The global burden of typhoid fever. **Bulletin of the World Health Organization**. v.82, p.346-353. 2004.

DAMASCENO, Q. S. **Características epidemiológicas dos microrganismos resistentes presentes em reservatórios de uma unidade de terapia intensiva.** 2010. 103 p. Dissertação (Mestrado em Enfermagem) – UFMG, Belo Horizonte, 2010.

DAMMAN, D.; BAHNSON, P.B.; WEIGEL, R.M. An estimate of *Salmonella* prevalence on Illinois swine farms using mesenteric lymph node cultures. **3rd International Symposium on the Epidemiology and Control of *Salmonella* in Pork**, Washington, DC. p.23-125, 1999.

D'AOUST, J.; MAURER, J.; BAILEY, J. S. *Salmonella* species. In: DOYLE, M. P.; BEUCHAT, L. R.; MONTVILLE, T. J. **Food Microbiology: fundamental and frontiers.** 2th ed. Washington: ASM, 2001.

DROPA, M. **Caracterização genotípica de cepas da família *Enterobacteriaceae* produtoras de β -lactamases de espectro estendido, isoladas de pacientes de um hospital da rede pública da cidade de São Paulo.** 2006. 116p. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

EMBRAPA – Suínos. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária.** Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/suinos/Abertura.html>>. Acesso em: 25 jan. 2011.

ESCARTIN, E.F.; CASTILLO, A.; HINOJOSA-PUGA, A.; SALDAÑA-LOZANO, J. Prevalence of *Salmonella* in chorizo and its survival under different storage temperatures. **Food Microbiology.** v. 16, p. 479-486, 1999

EUROSURVEILLANCE. WHO reports that withdrawing antimicrobial growth promoters in animals in Denmark has reduced threat of antimicrobial resistance to human health. **Eurosurveillance.** v.7, n.36, art.3. set., 2003. Disponível em: <<http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=2287>>. Acesso em: 22 dez. 2011.

EWING, W. H. **Identification of *Enterobacteriaceae*.** 4th Ed. Elsevier Sci. Publish. Co. Inc., New York, 536pp., 1986.

FAO/WHO/OIE.: Joint FAO/WHO/OIE Expert Meeting on Critically Important Antimicrobials. Report of a meeting held in FAO, Italy, 26-30 November, 2007. FAO/Rome, Italy, and WHO, Geneva, Switzerland, 2008, 52 pp.

FEDORKA-CRAY, P. J.; GRAY, J. T.; WRAY, C. *Salmonella* infections in pigs. In: WRAY, C.; WRAY, A. ***Salmonella* in domestic animals.** Oxford University Press, p. 191-207, 2000.

FEDORKA-CRAY, P. J.; WHIPP, S. C.; ISAACSON, R. E.; NORD, N.; LAGER, K. Transmission of *Salmonella typhimurium* to swine. **Veterinary Microbiology.** v.41, p.333-344, 1994.

FERREIRA, E. O.; CAMPOS, L. C. *Salmonella*. In: TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia.** 5. ed. São Paulo: Atheneu, 2008. cap. 43, p.329-338.

FIOL, F. S. D.; LOPES, L. C.; TOLEDO, M. I.; BARBERATO-FILHO, S. Perfil de prescrições e uso de antibióticos em infecções comunitárias. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v.43, n.1, p.68-72, jan./fev., 2010.

FIORENTIN, L. Entendendo a questão dos antibióticos promotores de crescimento em frangos. **Avicultura Industrial**, v.96, n.1136, p.62-64, 2005.

FISHER, I. S. International trends in salmonella serotypes 1998-2003 - a surveillance report from the Enter-net international surveillance network. **Euro Surveill**. v.9, n.11, 2004. Disponível em: <<http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=487>>. Acesso em: 24 jan. 2011.

FOLEY, S. L.; LYNNE, A. M.; NAYAK, R. *Salmonella* challenges: Prevalence in swine and poultry and potential pathogenicity of such isolates. **Journal of Animal Science**. v.86, p.149-162. 2008.

FRANCO, B. D. G. M. F.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008. p.182.

FUZHARA, T. O. **Freqüência e características de Salmonella em abatedouros de pequeno e médio portes da região do grande ABC**. 2001. 98 f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

GEBREYES, W. A. DAVIES, P. R.; MORGAN, N. M.; FUNK, J. A.; ALTIER, C. Antimicrobial Resistance of Salmonella Isolates from Swine. **Journal of Clinical Microbiology**, v.38, n.12, p.4633-4636, dez., 2000.

GEIMBA, M. P.; TONDO, E. C.; BRANDELLI, A. Antimicrobial resistance in *Salmonella* Enteritidis isolated from foods involved in human foodborne outbreaks that occurred in the south of Brasil, 1999-2000. **Journal Food Safety**. v.25, p. 173-182. 2005.

GIOVANNINI, A.; PRENCIPE, V.; CONTE, A. et al. Quantitative risk assessment of *Salmonella* spp. infection for the consumer of pork products in an Italian region. **Food Control**, v.15, p.139-144, 2004.

GLOBO.COM – Jornal Nacional. Antibióticos têm que ser vendidos com receita. **globo.com**. mar., 2010. Disponível em: <<http://jornalnacional.globo.com/Telejornais/JN/0,,MUL1543744-10406,00-ANTIBIOTICOS+TEM+QUE+SER+VENDIDOS+COM+RECEITA.html>>. Acesso em: 26 dez. 2010.

GRIFFITH, R. W.; SCHWARTZ, K. J.; MEYERHOLZ, D. K. *Salmonella*. In: STRAW, B. E.; ZIMMERMAN, J. J.; D'ALLAIRE, S.; TAYLOR, D.J. **Diseases of swine**, 9 ed., Ames Iowa: Blackwell Publishing, p.739-755, 2006.

GRIMONT, P. A. D.; WEILL, F. Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars. 9.ed. Paris: **Institut Pasteur**, WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*, 2007. 166p. Disponível em: <http://www.pasteur.fr/sante/clre/cadrecnr/salmoms/WKLM_2007.pdf>. Acesso em: 22 nov. 2010.

GUIMARÃES, A. G.; LEITE, C. C.; TEIXEIRA, L. D. S.; SANT'ANNA, M. E. B.; ASSIS, P. N. Detecção de *Salmonella spp.* em alimentos e manipuladores envolvidos em um surtos de infecção alimentar. **Revista Brasileira de Saúde Pública**. v.2, n.1, p.1-4. 2001.

HAUTEFORT, I.; THOMPSON, A.; ERIKSSON-YGBERG, S.; PARKER, M. L.; LUCCHINI, S.; DANINO, V.; BONGAERTS, R. J.; AHMAD, N.; RHEN, M.; HINTON, J. C. During infection of epithelial cells *Salmonella enterica* serovar Typhimurium undergoes a time-dependent transcriptional adaptation that results in simultaneous expression of three type 3 secretion systems. **Cellular Microbiology**. v.10, n.4, p.958-84, abr., 2008.

HENSEL, M. Evolution of pathogenicity islands of *Salmonella enterica*. **International Journal of Medical Microbiology**, v.294, p.95-102, 2004.

HOOPER, D. C. Emerging mechanism of fluoroquinolone resistance. **Emerging Infectious Diseases**, v.7, n.2, p.337- 41. 2001.

HURD, H. S.; MCKEAN, J. D.; GRIFFITH, R. D.; ROSTAGNO, M. H. Estimation of the *Salmonella enterica* prevalence in finishing swine. **Epidemiology and Infection**, v.132, n.1, p.127-135, 2004.

JONES, B. D.; FALKOW, S. Salmonellosis: host immune responses and bacterial virulence determinants. **Annual Review of Immunology**. v.14, p. 533-556. 1996.

KATZUNG, B. G. **Farmacologia básica e clinica**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2005. 991 pp.

KICH, J. D.; MORÉS, N.; VIDAL, C. E. S.; PIFFER, I. A.; JÚNIOR, W. B.; AMARAL, A. L.; RAMMINGER, L.; CARDOSO, M. I. Fatores de risco associados com a prevalência sorológica de *Salmonella* em granjas comerciais de suínos no sul do Brasil. **Ciência Rural**, v.35, p.398-405, 2005.

KICH, J. D.; MORÉS, N.; VIDAL, C. E. S.; PIFFER, I. A.; JÚNIOR, W. B.; AMARAL, A. L.; RAMMINGER, L.; CARDOSO, M. I. Fatores de risco associados com a prevalência sorológica de *Salmonella* em granjas comerciais de suínos do sul do Brasil. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Comunicado técnico 309. Concórdia, nov., 2002.

KORSAK, N.; CLINQUART, A.; DAUBE, G. *Salmonella spp.* dans les denrées alimentaires d'origine animale: un réel problème de santé publique? **Annales de Médecine Vétérinaire**. n.148, p.174-193, 2004.

LAZARO, N. S.; TIBANA, A.; RODRIGUES, D. P.; REIS, E. M. F.; QUINTAES, B. R.; HOFER, E. Antimicrobial resistance and R-plasmid in *Salmonella spp* from swine and abattoir environments. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.24, n.2, p.57-60. abr. / jun., 2004.

LÁZARO, N. S. REIS, E. M. F.; PEREIRA, C. S; RODRIGUES, D. P. Gênero *Salmonella*: Características Epidemiológicas e Laboratoriais. **Manual Técnico**, LABENT, IOC/FIOCRUZ. 69 p. 2008.

LAZARO, N. S.; TIBANA, A.; HOFER, E. *Salmonella spp* in healthy swine and abattoir environments in Brazil. **Journal of Food Protection**, v.60, p.1029-1033, 1997.

LEDERMANN, W. D. Una historia del bacilo de Eberth desde Junker hasta Germanier. **Revista chilena de infectología**. Edición aniversario 2003, p.58-61, 2003.

LIRIO, V. S.; SILVA, E. A.; STEFONI, S.; CAMARGO, D.; RECCO, E. A. P.; MALUF, Y. T.; MIYAZAWA, T. T.; NEVES, D. V. D. A.; OLIVEIRA, V. M. R. Freqüência de 17 sorotipos de *Salmonella* isolados em alimentos, **Higiene Alimentar**, v.12, n.55, p.36-42, 1999.

LOBO, M.V.; UGALDE, M. G.; FRIES, L. L. M.; KUBOTA, E. H. Avaliação microbiológica de salames coloniais comercializados no município de Santa Maria – RS. **Higiene Alimentar**, v.15, n.88, p.57-61. 2001.

LOUREIRO, E. C. B. Marques, N. D. B.; Ramos, F. L. P.; Reis, E. M. F.; Rodrigues, D. P.; Hofer, E. Sorovares de *Salmonella* de origem humana identificados no Estado do Pará, Brasil, no período de 1991 a 2008. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v.1, n.1, p.93-100, 2010.

MALORNY, B.; LÖFSTRÖM, C.; WAGNER, M.; KRÄMER, N.; HOORFAR, J. Enumeration of *Salmonella* Bacteria in Food and Feed Samples by Real-Time PCR for Quantitative Microbial Risk Assessment. **Applied and Environmental Microbiology**. v.74, p.1299-1304, n.5, mar., 2008.

MASLOW, J. N., MULLIGAN, M. E.; ARBIT, R. D. Molecular epidemiology: Application of contemporary techniques to the typing of microorganisms. **Clinical Infectious Diseases**. v.17, p.153-164. 1993.

MEAD, P. S.; SLUTSKER, L.; DIETZ, V.; MCCAIG, L. F.; BRESEE, J. S.; SHAPIRO, C.; GRIFFIN, P. M.; TAUXE, R. V. Food- related illness and death in the United States. **Emergency Infect Disease**, v.5, n.5, p.607-625, set./out., 1999.

MICHAEL, G. B.; BUTAYE, P.; CLOECKAERT, A.; SCHWARZ, S. Genes and mutations conferring antimicrobial resistance in *Salmonella* spp.: an update. **Microbes and Infection**. v.8, p.1898-1914. 2006.

MILLER, S. I.; PEGUES, D. A. *Salmonella* species, including *Salmonella typhi*. In: MANDELL, G. L.; BENNETT, J. E.; DOLIN, R. **Principles and practice of infectious diseases**. Philadelphia, P.A. Churchill Livingstone, p.2344-2353. 2000.

MONTEIRO, J. M. C. **Desempenho, composição da carcaça e características de qualidade da carne de suínos de diferentes genótipos**. 2007. 110 p. Tese (Doutorado em zootecnia) – UNESP, Jaboticabal, 2007.

MÜLLER, M.; SCHWARZ, P.; DEONKICH, J.; CARDOSO, M. Perfil sorológico e de isolamento de *Salmonella* sp. em suínos no início da terminação e ao abate. **Ciência Animal Brasileira**, v.10, n.3, p.931-937, jul./set. 2009.

NARMS. National Antimicrobial Resistance Monitoring System. **Annual Report Enteric bacteria, 2006**. Disponível em: <www.cdc.gov/narms/annual/2006/NARMSAnnualReport2006.pdf>. Acesso em: 02 jan. 2010.

NETO, J. P. Resíduos de antimicrobianos em alimentos. **Revista Conselho Federal de Medicina Veterinária** – Brasília/DF. Ano VII, n.22. p.65-71. 2001.

NETO, P. C. O desafio de ampliar o mercado externo. **ABIPECS**, São Paulo, set., 2009. Disponível em: <<http://www.abipecs.org.br/news/62/97/O-desafio-de-ampliar-o-mercado-externo.html>>. Acesso em: 25 jan. 2011.

OLIVEIRA, C. J. B.; CARVALHO, L. F. O. S. Infecções por *Salmonella* em suínos: panorama e perspectivas. **Suinocultura Industrial**. n.3, p.35-39. 2003.

OLIVEIRA, W. F.; CARDOSO, W. M.; SALLES, R. P. R.; ROMÃO, J. M.; TEIXEIRA, R. S. C.; CÂMARA, S. R.; SIQUEIRA, A. A.; MARQUES, L. C. L. Initial identification and sensitivity to antimicrobial agents of *Salmonella* sp. isolated from poultry products in the State of Ceara, Brazil. **Brazilian Journal of Poultry Science**. v.8, n.3, p.193-199, 2006.

OMS – Organização Mundial da saúde. Control de la salmonelosis: importancia de la hygiene veterinária y de los productos de origen animal. **Série de Informes Técnicos**, n.774. 1988.

PALERMO-NETO, J. O problema do uso inadequado de antibióticos na produção de suínos. **Acta Scientiae Veterinariae**. v.35(Supl.), p.1-8, 2007.

PALERMO-NETO, J. Uso de antimicrobianos em produção animal: para onde vamos? **PorkExpo & IV fórum Internacional de suinocultura**, Curitiba, 11p, 2008.

PEREIRA, C. S.; MEDEIROS, L. M.; COSTA, R. G.; FESTIVO, M. L.; REIS, E. M. F.; SEKI, L. M.; RODRIGUES, D. P. Phage typing and multidrug resistance profile in *S. Typhimurium* isolated from different sources in Brazil from 1999 to 2004. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.38, p.385-390, 2007.

POPOFF, M. Y.; LE MINOR, L. E. The genus *Salmonella*. In: BRENNER, D. J.; KRIEG, N. R.; STALEY, J. T., eds. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. 2.ed. New York: Springer, v.2, p.764-799. 2005.

RABSCH, W.; TSCHAPE, H.; BAUMLER, A. J. Non-typhoid salmonellosis: emerging problems. **Microbes and Infection**. v.3, p.237-247. 2001.

RIBEIRO, A. R.; RIBEIRO, A. R.; KELLERMANN, A.; SANTOS, L. R.; NASCIMENTO, V. P. Resistência antimicrobiana em *Salmonella* Enteritidis isoladas de amostras clínicas e ambientais de frangos de corte e matrizes pesadas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.5, p.1259-1262, 2008.

RIBOT, E. M.; WIERZBA, R. K.; ANGULO, F. J.; BARRETT, T. J. *Salmonella* enterica serotype Typhimurium DT104 isolated from humans, United States, 1985, 1990, and 1995. **Emerging Infectious Diseases**, v.8, n.4, p.387-391. abr., 2002.

RAJIC, A. KEENLISIDE, J.; MCFALL, M. E.; DECKERT, A. E.; MUCKLE, A. C.; O'CONNOR, B. P.; MANNINEN, K.; DEWEY, C. E.; MCEWEN, S. A. Longitudinal study of *Salmonella* species in 90 Alberta swine finishing farms. **Veterinary Microbiology**, v.105, n.1, p.47-56, dez., 2005.

RODRIGUES, D. P. **Relatório Anual de Atividades do Laboratório de Referência Nacional Cólera & Enteroinfecções Bacterianas, 2005-2010.** CGLAB/DEVEP/SVS. 2010

ROSSI, A. A. **Biossegurança em frangos de corte e saúde pública: limitações, alternativas e subsídios na prevenção de salmoneloses.** 2005. 11 p. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas). Universidade Federal de Santa Catarina. 2005.

ROSTAGNO, M., HURD, H. S.; MCKEAN, J. D.; et al. *Salmonella* infection in market swine during pre-slaughter holding. In: IPVS CONGRESS, 17, 2002, Iowa. **Proceedings.** IPVS, p.319. 2002.

ROSTAGNO, M. H., HURD, H. S.; MCKEAN, J. D.; ZIEMER, C. J.; GAILEY, J. K.; LEITE, R. C. Pres-slaughter holding environment in pork plants is highly contaminated with *Salmonella enterica*. **Applied Environmental Microbiology**, v.69, n.9, p.4489-4492. 2003.

SALVATORI, R. U.; BESSA, M. C.; CARDOSO, M. R. I. Qualidade sanitária de embutidos coletados no mercado público central de Porto Alegre-RS. **Ciência Rural**, v.33, p.771-773. 2003.

SAUNDERS, J. R. Genetics and evolutions of antibiotic resistance. **British Medical Bulletin**, v.40, p.54-60. 1984.

SCHULTZ, R. A. Produção mundial de carne suína - comparação de custos de produção. **Suinocultura Industrial**, n.6, ed.189, 2005.

SCHWARTZ, K. J. Salmonellosis. In: STRAW, B. E.; D'ALLAIRE, S.; MENGELING, W. L.; TAYLOR, D. J. **Diseases of swine.** 8th ed. Ames: Iowa State University Press, cap.39, p.535-551. 2000.

SCHWARTZ, P.; CALVEYRA, J. C.; SELLA, A.; DRIEMEIER D.; BARCELLOS, D. E. S. N.; CARDOSO, M. Estudo Longitudinal da Infecção por *Salmonella enterica* em Rebanho Suíno no Sul do Brasil. In: 3. Congresso latino-americano de suinocultura, Foz do Iguaçu, **Anais**, v.1, p.457-460, 2006.

SCHWARZ, P.; CALVEIRA, J.; SELLA, A.; BESSA, M.; BARCELLOS, D. E. S. N.; CARDOSO, M. *Salmonella enterica*: isolamento e soroprevalência em suínos abatidos no Rio Grande do Sul. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.5, p.1028-1034, 2009.

SHEBOLINA, E. S.; SULLIVAN, S. A.; O'NEILL, K. R.; NEVIN, K. P.; LOVLEY, D. R. Isolation characterization, and U (VI) - reducing potential of a facultatively anaerobic, acid-resistant bacterium from low-pH, nitrate an U (VI) contaminated subsurface sediment and description of *Salmonella subterranean* sp. **Applied and Environmental Microbiology**. v.70, n.5, p.2959-2965, 2004.

SILVA, E. M.; DUARTE, A. *Salmonella Enteritidis* em Aves: Retrospectiva no Brasil. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.4, n.2 p.85-100, maio/ago., 2002.

SILVA, M. C. **Prevalência de *Salmonella* sp. em suínos abatidos no estado de Mato Grosso**. 2008. 68 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade federal do Mato Grosso, Cuiabá, 2008.

SOTO, S. M.; RODRÍGUEZ, I.; RODICIO, M. R.; VILA, J.; MENDOZA, M. C. Detection of virulence determinants in clinical strains of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis and mapping on macrorestriction profiles. **Journal Medicine Microbiology**. v.55 p.365-373, abr., 2006.

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

SUINOCULTURA INDUSTRIAL. Liderança da lingüiça. **Suinocultura industrial**. 2010. Disponível em: <http://www.suinoculturaindustrial.com.br/PortalGessulli/WebSite/Noticias/lideranca-da-linguica,20100714135708_Q_806,20081118093812_F_643.aspx> Acesso em: 20 jan. 2011.

SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2006. p 897.

SPOLAORE, A. J. G. **Prevalência de *Salmonella* sp. em linfonodos mesentéricos de suínos abatidos na região oeste do Paraná e potencial de disseminação em bandejas, facas e luvas de manipuladores durante a inspeção *postmortem***. 2007. 59 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias), Universidade Federal do Paraná. PR, 2007.

SPRICIGO, D. A.; MATSUMOTO, S. R.; ESPÍNDOLA, M. L.; FERRAZ, S. M. Prevalência, quantificação e resistência a antimicrobianos de sorovares de *Salmonella* isolados de lingüiça fresca suína. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 4, p. 779-785, out./dez., 2008.

SWANENBURG, M.; URLINGS, H. A.; SNIJDERS, J. M.; KEUZENKAMP, D. A.; VAN KNAPEN, F. *Salmonella* in slaughter pigs: prevalence, serotypes and critical control points during slaughter in two slaughterhouses. **International Journal of Food Microbiology**, v.70, n.3, p.243–254, nov., 2001.

TAVECHIO, A. T.; GHILARDI, A. C.; PERESI, J. T.; FUZIHARA, T. O.; YONAMINE, E. K.; JAKABI, M.; FERNANDES, S. A. Serotypes Isolated from Nonhuman Sources in São Paulo, Brazil, from 1996 through 2000. **Journal of Food Protection**. v.65, n.6, p.1041-1044, jun., 2002.

TENOVER, F. C. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. **American Journal of Medicine**, New York, v.119, p.3-10, 2006.

TESSMANN, C.; ZOCHE, F.; LIMA, A. S.; BASSANI, M.; LOPES, G. V.; SILVA, W. P. Ocorrência e perfil de sensibilidade a antibióticos de *Salmonella* spp. isolada em cortes de carne suína comercializadas em feiras-livres de Pelotas (RS). **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v.26, n.2, p.307-313, jul./dez., 2008.

THOMPSON, A., ROWLEY, G.; ALSTON, M.; DANINO, V.; HINTON, J. C. *Salmonella* transcriptomics: relating regulons, stimulons and regulatory networks to the process of infection. **Current Opinion in Microbiology**, v.9, n.1, p.109-116, fev., 2006.

THRELFALL, E. J. Epidemic *Salmonella* Typhimurium DT 104 — a truly international multiresistant clone. **Journal Antimicrobial Chemotherapy**. v.46, n.1, p.7-10, jul., 2000.

THRELFALL, E. J.; FROST, J. A. A Review - The identification, typing and fingerprinting of *Salmonella*: laboratory aspects and epidemiological applications. **Journal of Applied Bacteriology**, v.68, p.5-16. 1990.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 8. ed. São Paulo: Artmed, 2005. p. 894.

TRAN, J. H.; JACOBY, G. A. Mechanism of plasmid mediated quinolone resistance. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v.99, p.5638-5642, 2002.

TRINDADE, P. S.; NALERIO, E. S.; PEGORARO, M. R. P.; JANTZEN, M.; ZOCHE, F.; ARAÚJO, M. R.; LIMA, A. S.; SILVA, W. P. *Salmonella* sp em derivados cárneos comercializados na cidade de Pelotas - RS. In: XIII CIC - Congresso de Iniciação Científica / VI ENPOS - Encontro de Pós Graduação, 2004, Pelotas. **Anais do XIII CIC / VI ENPOS**. 2004.

VAN ASTEN, A. J.; VAN DIJK, J. E. Distribution of "classic" virulence factors among *Salmonella* spp. **FEMS - Immunology and Medical Microbiology**, v.44, p.251-259. 2005.

VAZ, E. K. Resistência antimicrobiana: como surge e o que representa para a suinocultura. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.37, supl.1, p.147-150, 2009.

VELGE, P.; CLOECKAERT, A.; BARROW, P. Emergence of *Salmonella* epidemics: The problems related to *Salmonella enterica* serotyp Enteritidis and multiple antibiotic resistance in other major serotypes. **Veterinary Research**, v.36, p.267-288. 2005.

WEILL, F. X.; GUESNIER, F.; GUIBERT, V.; TIMINOUNI, M.; DEMARTIN, M.; POLOMACK, L.; GRIMONT, P. A. Multidrug Resistance in *Salmonella enterica* Serotype Typhimurium from Humans in France (1993 to 2003). **Journal of Clinical Microbiology**, v.44, n.3, p.700-708, mar., 2006.

WHO - Antimicrobial Resistance. **World Health Organization**. Disponível em: <<http://www.who.int/drugresistance/en/>>. Acesso em: 30 jan. 2011.

WILKINS, W., RAJIĆ, A.; WALDNER, C.; MCFALL, M.; CHOW, E.; MUCKLE, A.; ROSENGREN, L. Distribution of *Salmonella* serovars in breeding, nursery, and grow-to-finish pigs, and risk factors for shedding in ten farrow-to-finish swine farms in Alberta and Saskatchewan. **Canadian Journal Veterinary Research**, v.74, n.2, p.81-90, abr., 2010.

8 ANEXOS

8.1. Meios de cultura e reagentes: para o preparo dos meios de cultura desidratados, reagentes e soluções comercializados e não discriminados a seguir, obedecer às recomendações dos fabricantes.

Meio de Triagem - Meio de Triagem de Costa e Vernin – CV

A - Base semi-sólida

Peptona	20g
Cloreto de sódio	5g
Solução de Azul de Timol	3mL
Indicador de Andrade	10mL
Ágar-ágar.	5g
Água destilada	1.000mL

Adicionar todos os elementos à água e aquecer até dissolver completamente o ágar. Ajustar o pH a 7,3 ou a 7,4. Distribuir quantidades exatas do meio em balões e esterilizar a 121°C por 15 minutos.

B - Base sólida

Peptona (Bacto)	1g
Triptona ou tripticase	5g
Tiosulfato de sódio	0,2g
Sulfato ferroso amoniacal	0,2g
Solução de azul de timol	3mL
Indicador de Andrade	10mL
Ágar	20g
Água destilada	1.000mL

Adicionar os componentes em água destilada e aquecer em banho-maria fervente até a completa dissolução. Ajustar o pH a 7,3 ou a 7,4. Distribuir quantidades exatas do meio em balões e esterilizar a 121°C por 15 minutos.

Preparo e distribuição final do meio

Fundir as bases e resfriar entre 50°C a 60°C, aproximadamente. Adicionar, a cada um deles, na proporção de 5mL por 100mL de meio, a solução de ureia e açúcares. Distribuir, inicialmente, o ágar semissólido em volume de 2,5mL em tubos esterilizados de 13mm de diâmetro com altura variável. Deixar solidificar, à temperatura ambiente, por cerca de 30 minutos e acrescentar, em seguida, volume idêntico, por tubo, da base sólida. Inclinare os tubos, de modo a deixar uma base de 2cm a 3cm de altura, aproximadamente.

Solução de azul de timol

Azul de timol	1,6g
NaOH 0,1N	34,4mL
Água destilada	65,6mL

Indicador de Andrade

Fucsina ácida	0,5g
Hidróxido de Sódio N	16mL
Água destilada	100mL

Dissolver a fucsina em água destilada e adicionar o hidróxido.

Solução de Ureia e açúcares

Ureia	20g
Lactose	30g
Sacarose	30g
Água destilada	100mL

Dissolver a mistura por aquecimento brando em banho-maria e esterilizar por filtração. Conservar em geladeira.

A semeadura é executada com auxílio de agulha, introduzindo-a até o terço superior da metade da camada semissólida e sob a forma de estrias, na superfície da parte sólida. Neste meio, poderá ser pesquisada a produção de indol, fixando no tampão, após a inoculação, uma tira de papel de filtro, embebida no reativo para pesquisa de indol ou então impregnando o próprio algodão (hidrófilo) na sua base interna, com esse reativo. Incubar a 37°C durante 24 a 48 horas.

Reações observadas no meio de Costa e Vernin – CV

Leitura	Microrganismos
Meio inalterado, com certa alcalinidade no ápice (esverdeado ou azulado). Presença de H ₂ S; ausência de gás; móvel ou imóvel	<i>Salmonella</i> spp. <i>Edwardsiella tarda</i> <i>Citrobacter freundii</i>
Reações idênticas às acima citadas, sem H ₂ S	Certos sorovares de <i>Salmonella</i>
Meio inalterado no prazo de 24h, podendo se acidificar em períodos mais longos (fermentação lenta); ausência de H ₂ S; móvel ou imóvel	<i>Shigella</i> spp. <i>Providencia</i> sp.
Meio inteiramente azul, com produção ou não de H ₂ S; dificuldade na leitura da mobilidade	<i>Proteus</i> sp.
Camada sólida azul (superfície) e amarelo-azulado na porção semissólida (base), indicando ação sobre a sacarose. Presença de H ₂ S	<i>Proteus vulgaris</i>
Meio totalmente vermelho, por vezes podendo apresentar áreas amareladas (redução); grande produção de gás. Ausência de H ₂ S. Mobilidade presente ou não. Ápice do meio sólido com discreta alcalinidade na Tribo Klebsielleae	<i>Escherichia</i> , <i>Enterobacter</i> <i>Klebsiella</i> e <i>Serratia</i> (sem gás)
Meio com discreta acidez na profundidade, ligeira alcalinização na superfície. Presença de H ₂ S, móvel	<i>Citrobacter freundii</i>
Meio inalterado com 24h; pequena alcalinização na superfície, acentuando-se após 48h. Forte tonalidade azul-esverdeada na superfície. Ausência ou discreto crescimento no meio semissólido	<i>Pseudomonas</i>

Meio Básico para Fermentação de Carboidratos

Peptona	10g
Extrato de carne	3g
Cloreto de sódio	5g
Indicador de Andrade	10mL
Água destilada	1.000mL

Ajustar pH a 7.2. Distribuir em volumes de 3ml a 5ml e esterilizar a 121°C por 15 minutos. Os carboidratos glicose, lactose, sacarose e manitol são incorporados ao meio, na concentração final de 1,0%, os demais carboidratos são geralmente utilizados a 0,5%.

A glicose, manitol, dulcitol, salicina, adonitol e inositol podem ser incluídos ao meio básico e esterilizados a 121°C por 15 minutos, pois resistem a esse processo. No entanto, lactose, sacarose, celobiose, arabinose, ramnose e xilose devem ser esterilizados à parte, principalmente sob a forma de soluções a 10% ou a 20%, recorrendo-se, para tanto, aos processos físicos, como a filtração ou o aquecimento a 121°C por 10 minutos, seguido de resfriamento brusco. A presença de ácido no meio, em decorrência do metabolismo da bactéria, é revelada pela viragem do indicador de Andrade para uma coloração avermelhada.

Meio para Manutenção e Envio de Cepas Ágar nutriente fosfatado

*Extrato de carne	3g
*Peptona	10g
*Cloreto de Sódio (NaCl)	3g
Fosfato dibásico de sódio (12 H ₂ O)	2g
*Ágar-ágar	15 g
Água destilada	1.000mL

Ajustar o pH 7.2-7.4. Distribuir em tubos de hemólise, em volumes de 3mL a 4mL/tubo e esterilizar a 121°C por 15 minutos. Deixar solidificar em posição discretamente inclinada (bisel curto). A semeadura do meio deve ser realizada por duas a três picadas, até a profundidade, e por estrias, na superfície. Substituir o tampão de algodão dos tubos por rolhas de borracha ou por silicone previamente esterilizadas. Empregar as condições normais de tempo e de temperatura de incubação. Para manutenção por longo período, as cepas repicadas devem ser mantidas ao abrigo da luz.

*A formulação acima citada poderá ser substituída por meio comercializado (*ágar nutriente*), desde que mantidas as concentrações anteriormente mencionadas, efetuando-se adição somente da(s) droga(s) não existente(s) na formulação básica.

7.2. Caracterização fenotípica das espécies e subespécies de *Salmonella* spp.

Espécies	<i>S. enterica</i> subsp.						<i>S. bongori</i>
Subespécies	<i>enterica</i>	<i>salamae</i>	<i>arizonae</i>	<i>diarizonae</i>	<i>houtenae</i>	<i>indica</i>	
Características							
Dulcitol	+	+	-	-	-	d	+
ONPG (2h)	-	-	+	+	-	d	+
Malonato	-	+	+	+	-	-	-
Gelatinase	-	+	+	+	+	-	+
Sorbitol	+	+	+	+	+	-	+
Crescimento KCN	-	-	-	-	+	-	+
L(+) Tartarato ^(a)	+	-	-	-	-	-	-
Galacturonato	-	+	-	+	+	+	+
γ -glutamyl transferase	+ ^(b)	-	+	+	+	+	+
β -glucuronidase	D	D	-	+	-	d	-
Mucato	+	+	+	- (70%)	-	+	+
Salicina	-	-	-	-	+	-	-
Lactose	-	-	- (75%)	+ (75%)	-	d	-
Lise-fago O ₁	+	+	-	+	-	+	D
Habitat normal animais	Sangue quente		Sangue frio e meio ambiente				

Notas: (a): d-tartarato; (b): *S. Typhimurium* (d), *S. Dublin* (-); +: $\geq 90\%$ reações positivas;

$\geq 90\%$ reações negativas; d: diferentes reações (sorovares); (e): crescimento sem produção de ácido.