

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**Infecção experimental por *Salmonella enterica*
subespécie *enterica* sorotipo Panama e tentativa de
transmissão aérea em leitões desmamados**

GUIDO CARLOS ISELDA HERMANS MASSON
MÉDICO VETERINÁRIO

JABOTICABAL-SÃO PAULO - BRASIL
Fevereiro 2008

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**Infecção experimental de *Salmonella enterica* subespécie
enterica sorotipo Panama e tentativa de transmissão
aérea em leitões desmamados**

GUIDO CARLOS ISELDA HERMANS MASSON

Orientador: Prof. Dr. Luiz Fernando de Oliveira e Silva Carvalho

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, *Campus* de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de mestre em Medicina Veterinária. (Clínica Médica)

JABOTICABAL-SÃO PAULO - BRASIL

Fevereiro 2008

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

GUIDO CARLOS ISELDA HERMANS MASSON – Natural de Campinas – SP, nascido no dia 25 de junho de 1978, filho de Guido August Constant Masson e Denise Theofiel Eugenia Hermans. Graduiu-se em Medicina Veterinária na Universidade José do Rosário Velano (Unifenas- Alfenas- MG) em outubro de 2003. Durante o curso de graduação, no ano de 2001, participou de projeto de extensão rural. Durante todo curso de graduação, realizou estágio em diversas áreas, com destaque para o estágio no setor de suinocultura da Universidade Federal de Lavras. O estágio curricular foi realizado no Hospital Veterinário Taquaral em Campinas – SP. No ano de 2004, trabalhou na Clínica Veterinária Dog Kitty. No ano de 2005, foi contratado pela Nutremix, onde exerceu cargo de médico veterinário no departamento de assistência técnica a suínos, em Monte Alto – SP, sendo responsável também pela parte comercial de rações para suínos nas Granjas da região de Ribeirão Preto. Ingressou no Programa de Pós Graduação em Clínica Médica Veterinária, área de concentração em Clínica de Suínos, em março de 2006 na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista - Unesp *Campus* de Jaboticabal, como bolsista do CNPq.

DEDICO

aos meus pais e à minha avó Angelina

OFEREÇO

**à minha irmã, ao meu irmão
à minha madrinha Izelda**

Agradecimentos

A meus pais e minha avó, que sempre me apoiaram e incentivaram em minhas decisões.

À Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – *Campus* de Jaboticabal, pela oportunidade de realização do mestrado.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa.

Ao professor Luiz Fernando de Oliveira e Silva Carvalho, pelos ensinamentos, pela orientação e pela amizade ao longo destes anos.

A professora Maria Cristina Thomaz, pelas oportunidades de trabalhos e pela amizade.

Aos professores da Banca de Qualificação e de defesa, Ruben Pablo Schocken-Iturrino, Luís Antônio Mathias e Geraldo Camilo Alberton pelas importantes sugestões e correções.

A Dra. Jalusa Deon Kick por fornecer a cepa utilizada no experimento e pelas análises sorológicas.

Aos funcionários e amigos, Paulo, Renata, Cláudia e Ana Tereza do Laboratório de pesquisa em Clínica e Cirurgia Veterinária pelos ensinamentos e amizade.

Aos amigos e às amigas Urbano, Rizal, Jefferson, Eduardo (Soslaio) Armand, Alessandro, Luís Guilherme, Lucciano, Sandra, Daphine, Juliana, Carol, Simara, Ayumi, Marinez Luciano, Marcio, Paula e Juliana pelos momentos de descontração vividos ao longo destes anos e pela eterna amizade.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	v
LISTA DE TABELAS.....	vii
RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	ix
I. INTRODUÇÃO.....	1
II. REVISÃO DA LITERATURA.....	3
2.1 Classificação taxonômica e características do gênero <i>Salmonella</i>	3
2.2 Epidemiologia e importância na espécie suína.....	5
2.3 Presença de <i>Salmonella</i> em carcaças suínas.....	9
2.4 Isolamento microbiológico e sorologia.....	11
2.5 Medidas para o controle de <i>Salmonella</i> em granjas de suínos	13
2.6 Programas de controle de <i>Salmonella</i> no processamento de carne suína.....	18
III. MATERIAL E MÉTODOS.....	22
3.1 Animais.....	22
3.2 Isoladores.....	23
3.3 Ração e água.....	23
3.4 Amostra de <i>Salmonella</i> Panama e preparo do inóculo.....	24
3.5 Desenho experimental.....	26
3.6 Colheita das amostras.....	27
3.7 Necropsia.....	27
3.8 Bacteriologia.....	28
3.9 Sorologia (ELISA).....	29
3.10 Análise dos resultados.....	29
IV. RESULTADOS.....	34
V. DISCUSSÃO.....	38
VI. CONCLUSÕES.....	41
VI. REFERÊNCIAS.....	42

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Baia isoladora para estudos epidemiológicos de transmissão de agentes infecciosos em suínos – (a) tubos de ar e conectores; (b) câmara de passagem, (c) luvas externas que permitiram acesso ao interior do isolador para contenção e colheita das amostras; (d) bebedouro e reservatório de água e (e) saco para depósito de dejetos..... 30
- Figura 2:** Posicionamento dos isoladores e das respectivas conexões para o estudo da transmissão aérea de *Salmonella* – (1) isolador para animais-controle; (2) animais infectados e (3) animais-sentinelas. As setas amarelas indicam o fluxo unidirecional do ar. (a) câmara de passagem; (b) reservatório de ração; (c) luvas para colheitas de amostras..... 30
- Figura 3:** Desenho experimental esquematizando a montagem e a disposição das baias isoladoras. A seta indica a direção do ar filtrado do sentido ventilador ao exaustor passando primeiramente pela baia dos animais-controle, animais infectados (*Salmonella* Panama^{NAI+}) e animais-sentinela respectivamente Jaboticabal, 2007..... 31
- Figura 4:** Representação em fluxograma do protocolo para isolamento microbiológico de *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorotipo Panama, durante os 14 dias de colheita de amostras (suabes retais) de suínos..... 31
- Figura 5:** Colônias negras de *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorotipo Panama^{NAI+}, em ágar xilose-lisina tergitol 4 (XLT4) isoladas de suínos experimentalmente infectados para o estudo da transmissão aérea. Jaboticabal, 2007..... 32

- Figura 6:** *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorotipo Panama^{NAI+}, em ágar verde brilhante modificado isoladas de suínos experimentalmente infectados para o estudo da transmissão aérea. Jaboticabal, 2007..... 32
- Figura 7:** Prova bioquímica em ágar tríplice-açúca-ferro (TSI) demonstrando, o aspecto característico de cultura de *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorotipo Panama^{NAI+} isoladas de suínos experimentalmente infectados para o estudo da transmissão aérea. Jaboticabal, 2007..... 33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Composição percentual da ração, elaborada pelo departamento de Zootecnia da Unesp <i>Campus</i> de Jaboticabal e fornecida aos leitões durante o período experimental. Jaboticabal, 2007.....	25
Tabela 2:	Resultados encontrados em análises microbiológicas de suínos desmamados aos 21 dias de idade durante o período de adaptação pré-experimental. Este período corresponde a sete dias com colheitas de amostras de fezes do reto com auxílio de suabes a cada dois dias. Jaboticabal, 2007.....	34
Tabela 3:	Avaliação microbiológica realizada em baias isoladoras experimentais antes do alojamento de suínos desmamados aos 21 dias de idade após procedimento de limpeza e desinfecção. Jaboticabal, 2007.....	35
Tabela 4:	Resultados da detecção de <i>Salmonella</i> Panama ^{NAI+} pelo isolamento bacteriológico a partir de amostras de suabes retais colhidos individualmente dos suínos experimentalmente infectados para o estudo da transmissão aérea. Jaboticabal, 2007.....	36
Tabela 5:	Resultados da detecção de <i>Salmonella</i> Panama ^{NAI+} pelo isolamento bacteriológico a partir de amostras de tecidos de suínos após 14 dias da inoculação. Jaboticabal, 2007.....	37
Tabela 6:	Resultados sorológicos observados em soro sanguíneo de suínos antes e após o período de inoculação experimental com <i>Salmonella enterica</i> subespécie <i>enterica</i> sorotipo Panama ^{NAI+} . Jaboticabal, 2007.....	37

**INFECÇÃO EXPERIMENTAL DE *SALMONELLA ENTERICA* SUBESPÉCIE
ENTERICA SOROTIPO PANAMA E TENTATIVA DE TRANSMISSÃO AÉREA
EM LEITÕES DESMAMADOS**

RESUMO – O objetivo deste trabalho foi avaliar infecção por *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorotipo Panama e a possibilidade de transmissão aérea de entre leitões desmamados. Seis leitões recém-desmamados e sadios foram igualmente distribuídos na formação dos três grupos experimentais – o grupo-controle, o grupo infectado e o grupo-sentinela. Os animais foram alojados dois a dois em três câmaras de isolamento especialmente projetadas para o estudo, que garantiam não apenas que os animais fossem mantidos completamente isentos de contacto com o ambiente externo mas que o fluxo de ar unidirecional, no sentido animais-controle - animais infectados – animais-sentinela, fosse a única maneira de disseminação do agente. *Salmonella* Panama com resistência induzida ao ácido nalidíxico (*Salmonella* Panama^{Nal⁺}) foi utilizada na preparação do inóculo. Análises microbiológicas de suabes retais dos animais foram realizadas diariamente em todos os animais durante os 14 dias subseqüentes à inoculação, após o que os animais foram eutanasiados e necropsiados, visando análises microbiológicas de amostras de órgãos internos. As análises bacteriológicas iniciaram-se pelo pré-enriquecimento das amostras, em caldo GN-Hajna para as amostras de fezes e a água peptonada tamponada para os órgãos internos. Prosseguiram pelo enriquecimento em caldo Rappaport-Vassiliadis e em Tetracionato Müller Kaufmann para então serem semeadas nos ágaros xilose lisina tergitol 4 (XLT4) e verde-brilhante modificado, ambos suplementados com ácido nalidíxico. Colônias características foram submetidas às provas bioquímicas, em ágar tríplice açúcar ferro (TSI) e ágar ferro lisina (LIA) e posteriormente a avaliação sorológica. Amostras de sangue foram colhidas de todos os animais e, submetidas ao teste ELISA. Os resultados encontrados demonstraram que o inóculo foi capaz de induzir infecção sistêmica nos animais inoculados, mas a transmissão do agente aos animais-sentinela não foi comprovada.

Palavras-chave: *Salmonella*, suínos, transmissão aérea, ELISA.

EXPERIMENTAL INFECTION OF *SALMONELLA* ENTERICA SUBSPECIES ENTERICA SEROTYPE PANAMA AND ATTEMPT OF AERIAL TRANSMISSION IN WEANED PIGS

ABSTRACT – The aim of this study was to evaluate the experimental infection with *Salmonella* serotype Panama and the airborne transmission of among weaned piglets. Six weaned piglets were used and distributed in three groups of animals - group 1 (control), group 2 (infected) and group 3 (sentinels). All animals were housed in three stainless-steel glass isolation cabinets connected by unidirectional airflow air ducts. Animals didn't have contact with the external environment, guaranteeing that airflow was the unique way of the agent's spread. An induced nalidixic acid resistant strain of *Salmonella* Panama (*Salmonella* Panama^{Nal⁺}) were used to induce infection in one of the groups. Bacteriological analyses of rectal swabs were implemented daily within 14 days after inoculation. For bacteriological exams of internal organs animals were euthanized and necropsied. A pre-enrichment in broth GN-Hajna for the fecal samples and in buffered peptone water for the internal organs samples were conducted. Subsequently, samples were transferred to Rappaport-Vassiliadis and Tetrathionate Müller Kaufmann. The samples were transferred to the agar xylose-lysine-tergitol 4 (XLT4) and to a modified brilliant green media, both supplemented with nalidixic acid. Characteristic colonies were submitted to the biochemical tests triple sugar iron agar (TSI) and lysine iron agar (LIA) and later to the serological prove. Samples of blood were taken twice - before *Salmonella* inoculation and before euthanasia of the piglets. Sera was submitted to the ELISA test. Results showed a *Salmonella* systemic infection in the inoculated animals (infected group), but there were no evidence of *Salmonella* transmission to the sentinel group.

Keywords: *Salmonella*, piglet, swine, airborne transmission, ELISA.

I. INTRODUÇÃO

Organismos do gênero *Salmonella* são importantes agentes de toxinfecção alimentar. O potencial zoonótico destes agentes já é conhecido há mais de um século e atualmente representa sério problema de saúde pública, tanto em países desenvolvidos, como em desenvolvimento.

A crescente globalização do comércio de produtos de origem animal e o conseqüente aumento dos volumes de compra têm determinado maior competitividade entre as empresas do setor, ampliando, item a item, a exigência por produtos mais seguros. E tem sido o consumidor que, mais esclarecido sobre os riscos de contaminação, tem clamado pela melhor qualidade sanitária dos produtos cárneos. Todo esse conjunto de realidades constitui-se em objeto de competição entre todos aqueles que participam do mercado de exportadores. Inserido nesse grupo, o Brasil, além de maior viabilidade, tem mostrado grande capacidade para ampliar a produção e, de modo competitivo, expandir sua indústria agropecuária. Mas além das vantagens comparativas na produtividade, o Brasil necessita evoluir e competir com a melhor qualidade sanitária de seus produtos. A ausência de padrões de qualidade pode representar elemento de restrição ou até de alijamento, para este mercado cada vez mais exigente.

Em todo esse contexto, a carne e os produtos suínos assumem especial importância, já que essa espécie animal, além de participar e contribuir fortemente para a ampliação das receitas brasileiras de exportação, tem importante papel como reservatório e fonte de contaminação para inúmeros sorotipos de *Salmonella*. Apenas alguns poucos sorotipos, identificados como adaptados, causam doença clínica na espécie suína. A grande maioria, constituída por sorotipos não adaptados, é excretada intermitentemente pelos animais portadores e representa a principal fonte para a contaminação da carcaça desses animais, por ocasião do abate. Logo, a epidemiologia desta infecção na espécie suína deve ser enfocada sob dois aspectos distintos: a salmonelose como infecção clínica e a contaminação por *Salmonella* em carcaças suínas e seus produtos.

A doença clínica suína tem se revelado como de pouca importância, nos dias atuais. Decorre, de modo geral, do uso de farinha de carne contaminada na elaboração das rações fornecidas aos animais, e a epidemiologia dessas infecções, muitas das vezes, é facilmente determinada. A participação dos suínos como portadores e reservatórios da infecção para o homem é que representa fato relevante, e muito tem sido investido para o adequado esclarecimento da epidemiologia deste processo. Sabe-se que se trata de tema de grande complexidade e muito ainda há a esclarecer até que seja possível estabelecer um programa realmente eficiente para o controle da infecção.

Estudos já demonstraram que os padrões de transmissão e de infectividade podem variar amplamente, na dependência do sorogrupo referido. Muitos são, por outro lado, os sorogrupos que podem ser envolvidos em episódios de toxinfecção alimentar. É imperativo desta forma que estudos sejam conduzidos no sentido de esclarecer o comportamento específico de cada um destes sorotipos.

OBJETIVOS

Observar importância e a dinâmica da infecção por *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorotipo Panama em suínos experimentalmente infectados.

Estudar a importância da via aérea na transmissão de *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorotipo Panama na espécie suína.

II. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Classificação taxonômica e características do gênero *Salmonella*

Organismos do gênero *Salmonella* devem o seu nome ao bacteriologista veterinário Daniel Elmer Salmon, que junto com Theobald Smith isolaram e descreveram pela primeira vez o que chamaram, em 1885, de bacilo da peste suína. Mais tarde, este microrganismo passou a ser denominado *Salmonella Choleraesuis* (FEDORKA-CRAY et al., 2000; LABACVET, 2007).

O gênero *Salmonella* pertence à família *Enterobacteriaceae*, composto por bacilos Gram-negativos não esporulantes, intracelulares facultativos e geralmente móveis, com flagelos peritríquios (EDWARDS & EWING, 1986; EKPERIGIN & NAGARAJA, 1998), exceto a *Salmonella Galinarum* e a *S. Pulorum* (LABACVET, 2007). Nos últimos anos, o gênero vem sofrendo constantes modificações (EUZÉBY, 1999, BRENNER et al., 2000), entretanto, atualmente, a classificação utilizada é a proposta por LE MINOR & POPOFF (1987), a qual sugere a existência de duas espécies, a *Salmonella enterica* e a *Salmonella bongori*. A primeira contém seis subespécies - a *enterica*, a *salamae*, a *arizonae*, a *diarizonae*, a *indica* e a *houtenae*, também conhecidas como subespécies I, II, IIIa, IIIb, IV e VI, respectivamente (LE MINOR & POPOFF, 1987). A ubiquidade do gênero envolve praticamente todos vertebrados, incluindo anfíbios, répteis, mamíferos marinhos (LAX et al., 1995) e alguns invertebrados, como caracóis e baratas (DEVI & MURRAY, 1991). Animais de sangue quente são acometidos apenas por integrantes da subespécie I (*S. enterica* subsp. *enterica*) (UZZAU et al., 2000). De uma grande variedade de sorotipos, somente 50 sorotipos de *Salmonella*, todos pertencentes à subespécie citada, têm sido associados aos episódios de salmonelose em seres humanos e animais (JOSEPH, 1988).

Bioquimicamente as salmonelas caracterizam-se por não fermentar a lactose (exceto *S. enterica* subsp. *arizonae* e *S. enterica* subsp. *diarizonae*),

fermentam glicose com produção de gás (exceto *S. Typhi*), não produzem indol, não degradam a uréia e descarboxilizam lisina e ornitina (KONEMAN et al., 2001).

As salmonelas podem, ainda, ser classificadas em dois grupos distintos em relação ao hospedeiro que parasitam. Desta maneira, classificamo-las como sorotipos hospedeiro-adaptados e não-adaptados. Os sorotipos hospedeiro-adaptados compreendem aqueles quase que restritos a uma espécie animal e que freqüentemente causam doença clínica sistêmica. *S. Typhi* em humanos, *S. Dublin* em bovinos, *S. Choleraesuis* em suínos e *S. Galinarum* são exemplos de salmonelas hospedeiro- adaptadas (SCHWARTZ, 1999). O grupo de salmonelas não-adaptadas ao hospedeiro engloba sorotipos comuns a muitas espécies animais e que determinam, na maioria das vezes, infecção assintomática ou doença autolimitante, restrita ao trato intestinal (DAVIES et al., 1997b).

Uma grande variedade de sorotipos pode infectar os suínos. A doença clínica geralmente é causada pelos sorotipos *Salmonella Choleraesuis* e *Salmonella Typhimurium* (SCHAWRTZ, 1999). A importância da *S. Choleraesuis* tem declinado drasticamente em algumas partes do mundo. Até a década de 1970, ela foi regularmente isolada e identificada como principal agente nos casos de salmonelose suína na Grã Bretanha. Em 1976, *S. Choleraesuis* foi responsável por 10,0% (LINTON, 1979), e em 1995, por apenas 4,0% dos casos registrados nessa região (GRESHAM, 1996). Atualmente não se encontram muitos relatos envolvendo esse sorotipo.

A *S. Typhimurium* é o principal sorotipo não adaptado encontrado em suínos, capaz de causar as formas generalizada e localizada da salmonelose nesta espécie e possui importância crescente nos surtos de salmonelose suína e humana em diversas regiões (BAGGESEN & WENEGER, 2004), sendo responsável por 65% dos casos de salmonelose em humanos na Grã-Bretanha (GRESHAM, 1996). Além deste, uma grande variedade de sorotipos não-adaptados, muitos deles potencialmente patogênicos para o homem (BORCH et al., 1996), como os sorotipos Derby, Kedougou, Panama, *Choleraesuis* e Give,

têm sido isolados de suínos, a partir de amostras colhidas em frigoríficos, durante o processo de abate de animais aparentemente sadios (HARVEY et al., 1977).

LEE et al. (1972) consideraram o freqüente isolamento de *S. Panama* em suínos e produtos derivados indicação de adaptação evolutiva desse sorotipo à espécie suína. O mesmo parece ocorrer com a *Salmonella* Derby, já que esta parece ter se tornado adaptada à espécie e, atualmente, é uma das mais isoladas na Europa e nos E.U.A. (DAVIES, 1997a).

2.2 Epidemiologia e importância na espécie suína

Várias são as fontes de introdução de *Salmonella enterica* em rebanhos suínos. A aquisição de animais infectados, água, rações e ingredientes contaminados, vetores, funcionários ou visitantes são os principais meios de introdução mecânica do agente nas granjas (HEARD, 1969). No entanto a importância relativa de cada uma dessas fontes parece ser dinâmica e particular de cada granja (DAVIES & FUNK, 1999).

Pelo fato da bactéria ser eliminada nas fezes dos animais infectados (FEDORKA-CRAY et al., 2000), sobreviver e proliferar fora dos hospedeiros, ocorre um contínuo ciclo de contaminação fecal-oral, originando problema sanitário de difícil controle (BERENDS et al., 1996). Sendo a infecção fecal-oral a mais freqüente, atenção especial deve ser dada à ingestão de ração contaminada por fezes contendo *Salmonella* (SCHAWRTZ, 1999). HARRIS et al. (1997), analisando amostras de ração e ingredientes destinados a suínos, identificaram sete sorotipos de *Salmonella* (*S. Worthington*, *S. Anatum*, *S. Heidelberg*, *S. Agona*, *S. Montevideo*, *S. Oranienberg* e *S. Derby*) comumente isolados de suínos e seres humanos.

Além das fontes de introdução do agente nas granjas, aspectos relacionados ao manejo apresentam igual importância na epidemiologia e transmissão da *Salmonella*. Paralelamente às fontes de introdução do agente, ciclos internos de contaminação por *Salmonella* parecem ser característicos de cada granja (CARLSON & BLAHA, 2001). O suíno atua como um filtro biológico,

concentrando e excretando *Salmonella* com diferentes propriedades infectantes (LINTON, 1979). A probabilidade de transmissão de uma determinada baia para as adjacentes é estimada em 90% (BERENDS et al., 1996). Altas densidades, estresse de transporte e doenças nutricionais ou infecciosas concomitantes são fatores determinantes do aumento da eliminação de *Salmonella* pelas fezes dos hospedeiros e a aquisição da infecção pelos animais expostos. Assim, a contaminação ambiental da creche e da terminação seriam as principais causas das infecções endêmicas por salmonelas nas granjas suínas (BERENDS et al., 1996; GRESHAM, 1996; DAVIES et al., 1998). Portanto, a redução da contaminação ambiental por meio da desinfecção e do controle de vetores seriam as medidas mais efetivas no controle das infecções por *Salmonella* (GRESHAM, 1996).

Estudos demonstram que suínos experimentalmente inoculados eliminam grande número de bactérias nas fezes por períodos prolongados (WOOD et al., 1989). Geralmente os animais susceptíveis adquirem a infecção quando colocados em ambiente contendo fezes contaminadas (FEDORKA-CRAY et al., 1994; HURD et al., 2001).

O sistema de lâmina d'água, comumente empregado em baias de terminação, sugere que esta possa constituir importante meio para a difusão da infecção por *Salmonella* entre os animais ali alojados. DAVIES et al. (1998) descreveram o isolamento de *Salmonella* sorotipo Agona de suínos criados em sistemas similares ao da lâmina d'água. Resultados similares foram encontrados por FRESCHI (2007), ao realizar, recentemente, um estudo experimental sobre as vias de transmissão de *Salmonella*, demonstrando a transmissão de *S. Derby* através da lâmina d'água, entre as baias de animais infectados e sentinelas. Resultados divergentes foram encontrados por OLIVEIRA (2001) ao estudar a importância da lâmina d'água em granjas comerciais. No entanto a importância da transmissão hídrica de *Salmonella* no interior das granjas de suínos deve ser considerada.

FEDORKA-CRAY et al. (2000) sugeriram considerar outros mecanismos de transmissão para a *Salmonella*, incluindo a via aerógena. Já em 1966, HEARD & LINTON chamaram a atenção para a importância dessa via em granjas com sistemas intensivos de confinamento, uma vez que aerossóis podem ser facilmente gerados a partir das fezes e da água, durante a limpeza das baias ou o manejo de dejetos (STÄRK, 1999). O freqüente isolamento de *Salmonella* Enteritidis do ar de galpões de frango (LEVER & WILLIAMS, 1996) indica que a via aerógena de transmissão pode ser relevante também nas granjas suínas. De fato, a *Salmonella* é freqüentemente isolada de partículas de poeira em granjas suínas (RAJIC et al., 2005) e estas têm capacidade de manter-se por longos períodos em aerossóis (McDERMID & LEVER, 1996). Esses mesmos autores demonstraram que a *Salmonella* Typhimurium apresentou 100% de viabilidade em aerossóis, comparada a 70% de viabilidade apresentada pela *Salmonella* Enteritidis. Desta forma, a real importância dos aerossóis na transmissão de *Salmonella* entre suínos confinados necessita ser avaliada (DAVIES & FUNK, 1999).

Estudos experimentais já reproduziram a doença com sucesso, mediante a infecção com aerossóis contendo *Salmonella* (MINEV et al., 1981), inclusive em animais esofagotomizados. FEDORKA-CRAY et al. (1995), três horas após instilação nasal de *S. Typhimurium* em suínos esofagotomizados, isolaram a mesma de linfonodos mesentéricos, evidenciando a importância do trato respiratório superior, pulmões e tonsilas como portas de entrada alternativas para a infecção. WATHES et al. (1988), utilizando bovinos e ratos, demonstraram a necessidade de menores doses infectantes na produção de infecção pela via respiratória, comparada à dose utilizada na via oral, fato também comprovado em frangos (HUMPHREY, 1998). PROUX et al. (2001) observaram soroconversão em suínos livres de patógenos específicos (SPF) que recebiam ar de um outro galpão, onde estavam alojados animais experimentalmente infectados por *S. Typhimurium*. A transmissão experimental da bactéria por meio de aerossóis contaminados já foi demonstrada em aves (LEVER & WILLIAMS, 1996), ratos

(TANNOCK & SMITH, 1971; WATHES et al., 1988) e bezerros (WATHES et al., 1988). HARDMAN et al. (1991), analisando o perfil de transmissão de *Salmonella* num sistema intensivo de recria de bezerros, atribuíram ser a via aerógena a mais importante, quando comparada à via oral. Em estudo experimental utilizando câmaras fechadas e separadas apenas por condutores de ar, GAST et al. (1998) demonstraram a participação dos aerossóis na contaminação ambiental por *Salmonella* Enteritidis. Empregando sistema semelhante, OLIVEIRA et al. (2004) demonstraram a transmissão aérea de *Salmonella* entre suínos desmamados.

Adicionalmente, a transmissão por meio do contato naso-nasal é admitida em função da presença do agente nas secreções orofaríngeas (SCHWARTZ, 1999). O contato direto entre animais infectados e não infectados por *Salmonella* foi considerado a principal via de transmissão entre suínos criados intensivamente (LINTON, 1979). A transmissão de *Salmonella* Typhimurium promovida pelo contato naso-nasal entre leitões da mesma faixa etária alojados em baias com sistema fechado foi demonstrada por GARCIA (2006). LINTON (1979) demonstraram que o aumento na incidência da infecção foi diretamente relacionado ao aumento na densidade animal. Esses achados podem sugerir que o aumento na densidade animal possibilita maior contato social, facilitando a transmissão de *Salmonella* por meio do contato direto (FEDORKA-CRAY et al., 1994). O estresse, decorrente do aumento da densidade na criação, pode determinar o aumento na eliminação de *Salmonella* nas fezes dos animais infectados, aumentando a pressão de infecção no ambiente e favorecendo a transmissão por outras vias.

Os suínos infectados pelos sorotipos não-adaptados e que, geralmente, não desenvolvem doença clínica podem constituir importante fonte de infecção para outros animais e seres humanos (GHOSH, 1972). Em muitos casos, essas infecções subclínicas possuem duração desconhecida, emergindo como potencial zoonose. Nas granjas onde a incidência de *Salmonella* é alta, pode, inclusive, ocorrer infecção humana mediante contato direto com animais infectados (GRESHAM, 1996). Mais freqüentemente, no entanto, a salmonelose humana é

causada pela ingestão de alimentos ou água contaminados (TAUXE, 1991; EKPERIGIN & NAGARAJA, 1998; BAGGESEN & WEGENER, 2004;).

Estudos realizados nos EUA mostram que alguns dos principais sorotipos isolados de casos de salmonelose humana (*S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Heidelberg*) estão freqüentemente presentes nos suínos em terminação, revelando a importância que a espécie suína pode ter na transmissão dessa doença (DAVIES, 1997a). *Salmonella* Derby, *S. Heidelberg*, *S. Typhimurium*, *S. Mbandaka*, *S. Worthington* e *S. Tennessee* foram os principais sorotipos identificados em amostras de fezes de suínos criados em modernos sistemas de produção (DAVIES et al., 1997b).

2.3 Presença de *Salmonella* em carcaças suínas

A entrada sistemática de animais portadores e excretadores de *Salmonella* nas plantas frigoríficas é a maior causa de contaminação dos produtos cárneos (KICH et al., 2007). Existe associação positiva entre as prevalências de suínos infectados por *Salmonella* nas granjas e ao abate, fato demonstrado por KICH et al. (2007), em estudo realizado em frigoríficos no sul do Brasil, demonstrando que 25% das carcaças contaminadas apresentaram os mesmos genótipos isolados dos animais no pré-abate. SØRENSEN et al. (2004) demonstraram associação linear positiva entre soroprevalência e presença da bactéria em conteúdo de ceco, faringe e superfície da carcaça dos animais abatidos. Segundo os mesmos autores, o isolamento de *S. Typhimurium* de amostras de linfonodos de suínos sorologicamente negativos justifica a falta de associação linear entre sorodiagnóstico e contaminação de linfonodos mesentéricos. Comprovadamente, *S. Typhimurium* pode ser isolada dos linfonodos mesentéricos de suínos até 28 semanas pós-infecção (WOOD et al., 1989).

No Brasil, tem sido relatada a presença de animais portadores assintomáticos de *Salmonella* ao abate e a contaminação do produto final. Estudo

realizado no Rio Grande do Sul indicou que 55,66% dos suínos foram positivos ao abate, entre 300 amostras coletadas em três frigoríficos sob Inspeção Federal, e os sorotipos mais prevalentes foram *S. Typhimurium*, *S. Agona*, *S. Derby*, *S. Bredeney* e *S. Panama* (BESSA et al., 2004).

Em estudo recente realizado em frigorífico com Serviço de Inspeção Federal (SIF), também no Estado do Rio Grande do Sul, *Salmonella* foi isolada de pelo menos uma das amostras colhidas em 79% (71/90) dos suínos avaliados (CASTAGNA et al., 2004). Ocorreu, ainda, associação positiva entre amostras de linfonodos mesentéricos e amostras de tonsilas colhidas em conjunto com linfonodos submandibulares. Os sorotipos mais isolados foram Typhimurium (28,9%), Bredeney (26,7%), Derby (16%), Infantis (7,0%), Panama (4,8%), Enteritidis (4,3%), Tennessee (3,2%), Agona (2,2%), Gold Coast (1,6%), Minnesota (1,6%), Montevideo (0,5%), Orion (0,5%) e Saint Paul (0,5%).

O isolamento freqüente de *Salmonella* em suínos em idade de abate no Brasil já havia sido observado por PESTANA & RUGAI (1943). A partir de conteúdo intestinal e linfonodos mesentéricos, NEIVA (1946) detectou infecção em 41,5% dos animais investigados. ZEBRAL et al. (1974) relataram alta diversidade de sorotipos de *Salmonella* em suínos destinados ao abate. *Salmonella* Anatum (44,61 %) e *S. Typhimurium* (4,69%) foram os sorotipos mais isolados de suínos em estudo realizado por LANGENEGGER et al. (1983). Posteriormente LAZARO et al. (1997) isolaram *Salmonella* em 34,8% das amostras de linfonodos e tonsilas.

Com exceção da Suécia, onde a prevalência de *Salmonella* na cadeia de produção suína tem sido extremamente baixa (THORBERG & ENGVALL, 2001), o agente é freqüentemente isolado de suínos e de amostras de ambiente de frigoríficos em vários países. Na Bélgica, BOTTELDOORN et al. (2003) relataram variações diárias acentuadas quanto à freqüência de carcaças positivas (3 a 52%) em um mesmo frigorífico. Foi observada, ainda, contaminação ambiental em 25% das amostras colhidas antes do abate, sendo os sorotipos Typhimurium (38,6%), Livingstone (21%) e Derby (21%) aqueles mais isolados. Ampla variação (1 a

31%) na prevalência de *Salmonella* em carcaças de suínos foi observada na Irlanda (PEARCE et al., 2004).

Considerando a grande importância dos suínos portadores de *Salmonella* como fontes de contaminação das carcaças (SØRENSEN et al., 2004) e que riscos de contaminações cruzadas podem ocorrer em todos os pontos do abate (BORCH et al., 1996), a redução das infecções nas granjas suínas é considerada ponto crítico para o controle de *Salmonella* na carne suína. Além disso, boas práticas de produção diminuem os riscos de contaminação, durante o abate e processamento da carcaça (KICH et al., 2007).

2.4 Isolamento microbiológico e sorologia

O isolamento microbiológico constitui ferramenta valiosa e, até o momento, insubstituível, considerada a importância das informações epidemiológicas baseadas em características fenotípicas e genotípicas identificáveis pela cultura. Os métodos tradicionais para a detecção de *Salmonella enterica* são baseados em cultivos, utilizando meios seletivos. A caracterização das colônias suspeitas é feita por meio de testes bioquímicos e sorológicos (SOUMET et al., 1994). Entre os caldos de enriquecimento seletivos mais utilizados pelos laboratórios para o isolamento de *Salmonella* estão aqueles das famílias do selenito e tetracionato e o caldo Rappaport-Vassiliadis.

O caldo Rappaport-Vassiliadis tem demonstrado maior sensibilidade no isolamento microbiológico de *Salmonella enterica* de fezes de suínos naturalmente infectados (BAGER & PETERSEN, 1991; FEDER et al., (1998), o que o torna o único caldo de enriquecimento utilizado em muitos laboratórios que processam amostras de fezes suínas. O desempenho do caldo Rappaport-Vassiliadis no isolamento de *Salmonella*, de fezes de aves, foi significativamente menor que o meio Rappaport-Vassiliadis semi-sólido modificado (RVSM) (VOOGT et al., 2001).

DAVIES et al. (2000) demonstraram a superioridade de protocolos que utilizam enriquecimento primário em caldos tetracionato ou GN-Hajna e,

posteriormente, enriquecimento secundário em caldo Rappaport-Vassiliadis, sobre aqueles baseados no uso de etapa única de enriquecimento em caldo Rappaport-Vassiliadis, diretamente ou após pré-enriquecimento das amostras em água peptonada tamponada 2%.

O prolongamento no tempo de incubação de 24 para 48 horas proporcionou aumento da sensibilidade dos caldos selenito-cistina e tetracionato Müller-Kaufmann no isolamento de salmonelas, resultado não comprovado em relação ao caldo Rappaport-Vassiliadis (BAGER & PETERSEN, 1991).

Ensaio imunoenzimático (ELISA) para detecção de anticorpos contra *Salmonella*, em amostras de fluido muscular colhidas durante o abate, tem sido utilizado para a determinação da soroprevalência em plantéis. O método padrão tem o inconveniente de detectar anticorpos até 12 semanas após a infecção e, portanto, gerar resultados falso-positivos em amostras de animais que não estejam mais infectados no momento da colheita. Por outro lado, infecções no período final de terminação não são geralmente detectadas pela sorologia, em virtude do abate realizar-se antes da soroconversão, que ocorre, em média, 30 dias após a infecção (NIELSEN et al., 2001). Portanto, o teste sorológico fornece estimativa do número de animais que foram, em algum momento da produção, expostos ao agente. O método de ELISA mais difundido baseia-se na utilização de antígenos lipopolissacarídeos (LPS) de sorotipos de *Salmonella* pertencentes a diversos sorogrupos (mix-ELISA) e tem sido amplamente utilizado na categorização de granjas, dentro dos programas de controle de *Salmonella* em diversos países (NIELSEN et al., 1995). Variantes desse método estão disponíveis comercialmente na forma de kit. O mix-ELISA desenvolvido na Dinamarca (NIELSEN et al., 1995) e utilizado pelo programa nacional de controle de *Salmonella* daquele país (MOUSING et al., 1997) utiliza, como antígenos, LPS extraídos dos sorotipos Typhimurium e Choleraesuis, permitindo detectar anticorpos contra *Salmonella* dos sorogrupos B, C1 e D1. Os principais sorotipos isolados de suínos na Dinamarca pertencem aos sorogrupos citados, o que valida a utilização do teste nesse país. A maioria dos sorotipos de *Salmonella* isolados de suínos no Canadá pertence também a esses sorogrupos (RAJIC et al., 2005). No

entanto variações regionais e temporais no perfil de sorotipos de *Salmonella* podem ser observadas (LO FO WONG & HALD, 2000). Portanto, variações na sensibilidade e na especificidade do método de ELISA devem ser consideradas, quando realizado em localidades geográficas diferentes.

Correlação variável entre sorodiagnóstico por ELISA e isolamento microbiológico tem sido observada entre diferentes estudos (NIELSEN et al., 2001; KRANKER et al., 2003; SØRENSEN et al., 2004). Intervalos de aproximadamente 60 dias foram observados entre os períodos de maior frequência de isolamento do agente em granjas comerciais e os respectivos picos das respostas sorológicas (KRANKER et al., 2003). Em estudo europeu, foi observada uma correlação de 0,62 entre ambos os métodos (LO FO WONG & HALD, 2000).

No Brasil, existe o teste de ELISA baseado em antígenos lipopolissacarídeos da parede celular de uma amostra de *Salmonella* Typhimurium, (ELISA – Typhimurium), que apresenta pelo menos dois antígenos comuns aos sorovares Agona, Derby, Panama e Bredeney, freqüentemente isolados de suínos no Brasil (BESSA et al., 2004).

2.5 Medidas para o controle de *Salmonella* em granjas de suínos

A grande dificuldade para o controle da salmonelose em granjas suínas é justamente a falta de conhecimentos sobre a epidemiologia do agente (DAVIES, 1997a; LAUTNER, 1997). Informações sobre a transmissão dos diferentes sorotipos em sistemas intensivos de criação seriam essenciais para implantar e viabilizar medidas de controle de *Salmonella* nas fases pré-abate (DAVIES, 1997a; NIETFELD et al., 1998).

A complexidade da epidemiologia de *Salmonella* nos sistemas intensivos de criação de suínos é tal, que a simples adoção de práticas modernas de criação, tais como desmame precoce e sistema de criação "todos dentro - todos fora"

(AIAO), parece não ser suficiente para reduzir as infecções (FUNK et al., 2001a). Alguns estudos demonstraram a eficácia do desmame precoce em granjas infectadas, realizado entre 14 e 21 dias, na obtenção de leitões livres de *Salmonella*, quando os mesmos foram transferidos para instalações limpas (DAHL et al., 1997). Em granjas de ciclo completo, leitões de porcas soropositivas apresentaram prevalência de *Salmonella* significativamente menor na recria (KRANKER et al., 2003), fato explicado, em teoria, pela imunidade passiva contra *Salmonella* via colostro.

Por outro lado, o sistema de criação de suínos em sítios separados, utilizando manejo “todos dentro - todos fora”, recomendado para o controle de *Salmonella* (DAHL et al., 1997), parece não reduzir sua prevalência, quando comparado ao sistema convencional de criação, em fluxo contínuo e sem vazio sanitário entre os lotes de animais (DAVIES, 1997a). Maior prevalência de *Salmonella* em granjas que utilizam esse sistema foi observada em estudos conduzidos nos EUA (DAVIES, 1997a) e na Dinamarca (STEGE et al., 2001), quando comparadas a granjas com fluxo contínuo de produção.

Em recente estudo, menor prevalência de *Salmonella* foi associada às granjas com sistema “todos dentro - todos fora”, porém somente naquelas que dispunham de vestiários adjacentes aos galpões, proporcionando troca de botas, vestimentas, lavagem das mãos antes e após acesso aos mesmos, separação entre baias por paredes compactas, manejo nutricional (inclusão de ácidos orgânicos, ração não peletizada, maior granulometria, utilização de rações líquidas fermentadas e adequado armazenamento) (LO FO WONG et al., 2004). A transferência de suínos da recria para a terminação com peso inferior a 25 kg foi associada à menor prevalência de *Salmonella* na terminação (VAN DER WOLF et al., 1998). Segundo os autores, a maior quantidade de anticorpos maternos, adquiridos pelo colostro, poderia promover maior proteção contra infecções.

A prevalência de *Salmonella*, nos animais em terminação, alojados em baias de piso fenestrado, foi maior nos sistemas de criação empregando o manejo AIAO, quando comparada àquela dos sistemas de fluxo contínuo de criação (DAVIES et al., 1997b). A utilização de pisos fenestrados nas baias pode ser

importante instrumento no controle de *Salmonella*, já que propicia remoção mais rápida e efetiva das fezes, além de evitar transferência de fezes de uma baia a outra. Granjas com pisos fenestrados mostraram menor prevalência, comparadas àquelas com sistema similar ao da lâmina d'água, utilizada no Brasil (DAVIES et al., 1997b; DAVIES et al., 1998). Instalações e sistemas de escoamento dos dejetos, pisos fenestrados nas baias possibilitam, teoricamente, remoção mais rápida e efetiva das fezes, evitando sua transferência entre baias adjacentes (HEARD, 1969).

De acordo com estudo conduzido na Bélgica, a utilização de pisos fenestrados em toda a área de baias, nos galpões de terminação, foi associada à menor prevalência de *Salmonella* ao abate (NOLLET et al., 2004). Nos EUA, menor prevalência de *Salmonella* foi observada em animais alojados em galpões de terminação com piso fenestrado, comparativamente ao sistema "flush-gutter" (DAVIES, 1997a; DAVIES et al., 1997b).

Biossegurança e higiene, investigações baseadas em cultivo (FUNK et al., 2001b) e sorodiagnóstico (VAN DER WOLF et al., 2001; LO FO WONG et al., 2004) demonstraram associação significativa entre menor risco de infecção por *Salmonella* entre suínos e presença de alguns componentes de biossegurança, tais como vestiários, botas e lavatórios junto aos galpões, além de controle de fluxo e presença concomitante com outros animais.

Granjas com maior trânsito de funcionários, veterinários e visitantes apresentaram maior prevalência de *Salmonella* (FUNK et al., 2001b). Esses resultados são de certa forma esperados, pois inúmeros sorotipos de *Salmonella* são freqüentemente isolamentos de botas utilizadas nas granjas (CARLSON & BLAHA, 2001; BARBER et al., 2002; ROWE et al., 2003; RAJIC et al., 2005).

Maior prevalência de *Salmonella* foi observada em granjas co-habitadas por outras espécies domésticas (FUNK et al., 2001b). Salmonelas isoladas de suínos e aquelas obtidas dos gatos que residiam nas granjas apresentaram perfis de sorotipos bastante similares (BARBER et al., 2002). Fato bastante interessante, no entanto, foi à associação entre presença de gatos e menor prevalência de *Salmonella*, observada em recente investigação na Bélgica (NOLLET et al., 2004).

Os pesquisadores justificam o achado hipoteticamente, em função da possível atividade predatória de gatos sobre roedores e pássaros, os quais poderiam disseminar o agente em granjas comerciais.

A real importância das espécies silvestres (NEWELL & WILLIAMS, 1970) e de outros animais domésticos (SCHNURRENBERGER et al., 1968) na introdução de *Salmonella* nos plantéis suínos é questionada. Aqui, faz-se necessário citar alguns estudos nos quais nenhuma associação foi observada entre presença de outros animais domésticos e prevalência de *Salmonella* em criações de aves (HENKEN et al., 1992) e bovinos (KABAGAMBE et al., 2000). A maioria dos sorotipos de *Salmonella* isolados de suínos foi idêntica àqueles obtidos de animais silvestres numa mesma região (BARBER et al., 2002).

Técnicas moleculares demonstraram, ainda, alta similaridade genética entre *Salmonellas* isoladas de animais silvestres, principalmente pássaros, e aquelas obtidas dos animais de produção (REFSUM et al., 2002; LIEBANA et al., 2003).

A ausência de programas de controle de roedores foi associada à maior infecção por *Salmonella* em granjas brasileiras (KICH et al., 2001, citada por OLIVEIRA, 2005). Esses resultados corroboram os dados de LETELLIER et al. (1999), obtidos em granjas canadenses. *Salmonella* foi também isolada de moscas e insetos capturados em granjas suínas (BARBER et al., 2002), os quais podem atuar como vetores na transmissão do agente (DEVI & MURRAY, 1991).

Vários estudos demonstram a importância do ambiente como reservatório de salmonelas em granjas de suínos e frigoríficos (HURD et al., 2001, BELCEIL et al., 2004, ROSTAGNO et al., 2003). De fato, bactérias do gênero *Salmonella* podem permanecer viáveis nas fezes no ambiente por longos períodos (PLYM-FORSHELL & ESKEBO, 1996). Em estudo realizado no Estado de São Paulo, *S. Typhimurium* foi isolada de comedouro após os procedimentos de limpeza e desinfecção (OLIVEIRA, 2001). Em granjas do Rio Grande do Sul, foi observada maior soroprevalência de *Salmonella* justamente onde não era realizada a caiação das baias após limpeza, entre os lotes de suínos (KICH et al., 2001, citada por OLIVEIRA, 2005). A destinação inadequada de animais mortos foi também identificada, pelos mesmos pesquisadores, como fator de risco para a infecção.

É preciso salientar, no entanto, que algumas das medidas de controle acompanham as próprias mudanças nos sistemas tecnificados de criação de suínos e, certamente, não servem apenas ao controle de *Salmonella*, mas também de outros patógenos importantes. Investimentos em biosseguridade apresentam custos de implementação relativamente baixos, e os benefícios no controle de outros agentes infecciosos devem ser considerados (FUNK & GEBREYES, 2004). Porém o sucesso da execução de programas de biosseguridade na redução de *Salmonella* em granjas altamente contaminadas é questionável (DAVIES & FUNK, 1999).

Relativamente ao uso da imunoprofilaxia para o controle das infecções, o tema deve ser visto com muita cautela. Bacterinas e principalmente as vacinas vivas atenuadas têm demonstrado boa eficácia na proteção contra salmonelose clínica. Nenhum benefício da vacinação com bacterina de *S. Typhimurium* sobre a redução das infecções subclínicas foi observado por WINGSTRAND et al. (1996). Por outro lado, KOLB et al. (2002) demonstraram redução de infecções subclínicas por *Salmonella* por meio de imunidade cruzada decorrente da vacina viva atenuada contra *S. Choleraesuis*. SCHWARZ et al., (2007), utilizando a mesma vacina, encontraram menor prevalência de *Salmonella* em suínos abatidos no Rio Grande do Sul, mostrando a eficácia da mesma. Outro achado interessante, ainda no mesmo estudo, foi que a vacina não interferiu na detecção de anticorpos pelo teste de ELISA – LPS. Da mesma forma, LUMSDEN et al. (1991) mostraram ser eficaz o uso da vacina viva atenuada contra *S. Typhimurium* na redução da eliminação de *Salmonella* nas fezes de suínos.

Com relação à antibioticoterapia, não existe comprovação científica de que o uso de antibióticos possa contribuir para a redução das infecções por *Salmonella*. Portanto, a antibioticoterapia não deve ser considerada como método de redução da prevalência do agente em granjas comerciais (BLAHA, 2004). De acordo com ensaio experimental, a utilização de clortetraciclina foi associada significativamente à maior eliminação de *Salmonella Typhimurium* DT104 nas fezes, quando administrada sob dosagem terapêutica ou subterapêutica na fase de terminação (DELSOL et al., 2003).

A utilização de sulfa, clortetraciclina ou penicilina como promotores de crescimento em suínos foi associada à maior prevalência de *Salmonella* comparativamente às granjas onde se utilizavam probióticos (LEONTIDES et al., 2003). A suspensão do uso de promotores de crescimento antimicrobianos, ocorrida a partir de 1998 na Dinamarca, tem sido associada à redução na prevalência de *Salmonella enterica* e *Campylobacter* em suínos e frangos (EVANS & WEGENER, 2003). O uso da tilosina, também como promotor de crescimento, foi associado ao maior risco de infecção por *Salmonella* na Holanda (VAN DER WOLF et al., 1999). A probabilidade de diferentes granjas apresentarem os mesmos fatores de risco é muito baixa e, portanto, a probabilidade de diferentes estudos sobre possíveis fatores de risco identificarem as mesmas combinações de variáveis associadas ao maior risco de infecção por *Salmonella* é praticamente impossível (CARLSON & BLAHA, 2001).

Portanto, a eficácia do sistema de criação na redução dos riscos de contaminação por *Salmonella* não está clara, e a sua simples adoção, como forma de controlar o patógeno, pode não ser suficiente (FUNK et al., 2001a). As intervenções a serem tomadas parecem variar entre granjas e entre sistemas de criação. Algumas estratégias adotadas em outros países podem não ser aplicáveis à estrutura de produção de suínos no Brasil. Por outro lado, somente o maior conhecimento sobre a epidemiologia do agente em granjas suínas brasileiras permitirá o desenvolvimento de estratégias eficientes de redução e controle do patógeno.

2.6 Programas de controle de *Salmonella* no processamento de carne suína

A redução eficiente de *Salmonella* na carne suína depende da aplicação de medidas de controle em todos os elos da cadeia de produção (ALBAN & STÄRK, 2005). Nos EUA, intervenções objetivando o controle de *Salmonella* na carne suína têm sido dirigidas principalmente à fase de abate (FUNK & GEBREYES, 2004). A tendência se repete no Canadá (RAJIC et al., 2005), consequência do fato de que os EUA exigem que frigoríficos exportadores atinjam padrões de

controle do patógeno semelhantes aos existentes no próprio país. A expectativa é que os padrões sejam ainda mais rigorosos e que ocorra pressão cada vez maior, por parte dos frigoríficos, para que a presença *Salmonella* seja reduzida nas granjas (FUNK & GEBREYES, 2004).

O sucesso do Programa Nacional de Controle de *Salmonella* da Dinamarca (WEGENER et al., 2003) tem levado outros países europeus, como Alemanha, Reino Unido, Holanda e Bélgica, a investirem em programas de controle similares, na produção da carne suína. Os programas europeus são, de forma geral, integrados, e um forte enfoque é direcionado ao controle nas granjas.

Vários estudos sobre rastreabilidade identificaram o consumo de carne suína contaminada como causa de salmonelose humana (MØLBAK et al., 1999), e a prevalência de *Salmonella* em granjas suínas diminuiu durante o período de 1993 a 1998, após a aplicação do programa (CHRISTENSEN et al., 2002). A base do programa é o controle integrado, e suas diretrizes são conhecidas (ALBAN et al., 2002). As granjas são monitoradas por meio de sorodiagnóstico realizado ao abate, por ELISA de fluido muscular, e categorizadas em três níveis, de acordo com o risco de contaminação que representam. Suínos de granjas com elevada soroprevalência (nível 3) devem ser transportados separadamente e mantidos em compartimentos diferentes dos animais das granjas com menor prevalência (níveis 1 e 2). Adicionalmente, medidas especiais de profilaxia, além dos processos de higienização de rotina, são adotadas no abate de suínos da categoria 3. Aproximadamente 700 mil suínos são avaliados anualmente, e mais de 30.000 amostras são colhidas dos frigoríficos e analisadas microbiologicamente (WEGENER et al., 2003). Nos frigoríficos cuja contaminação excede os níveis aceitáveis, realiza-se investigação mais rigorosa.

Nos outros países escandinavos, onde existem programas de controle há décadas, a situação merece consideração especial. A ocorrência de *Salmonella enterica* na cadeia de produção animal da Finlândia e da Suécia é extremamente baixa.

Na Suécia, por exemplo, *Salmonella* não foi isolada em nenhuma das 3.388 amostras colhidas de suínos e do ambiente de frigoríficos (LO FO WONG &

HALD, 2000). O rigoroso controle dos produtos de origem animal utilizados na fabricação de rações animais, implementado há muito tempo, tem sido apontado como medida importante na manutenção dos níveis extremamente baixos do agente (ELD et al., 1991). Na Finlândia, menos de 1% das carcaças suínas estavam contaminadas por *Salmonella* no período entre 1995 e 2001 (MAIJALA et al., 2005). Barreiras sanitárias nas granjas, transferência mínima de animais durante a fase de produção, uso restrito de antibióticos e frequência baixa de importação de animais parecem contribuir significativamente para a baixa ocorrência da bactéria no país (MAIJALA et al., 2005). Adicionalmente, é exigido que muitos produtos de origem animal importados apresentem o mesmo nível de controle de *Salmonella* existente no país. O fato da prevalência de *Salmonella* ser baixa mesmo antes da aplicação dos programas de controle nesses países torna difícil a estimativa do real benefício desses programas. Relativamente ao programa finlandês de controle de *Salmonella* em frangos, estima-se que, para cada euro investido, outros 5,4 a 258,1 euros retornam em benefícios para a sociedade (MAIJALA et al., 2005). Não há, ainda, resultados sobre o impacto do programa para a carne suína.

Todavia, a situação parece não ser compartilhada pela Noruega. SANDBERG et al. (2002) concluíram que o Programa Norueguês de Controle de *Salmonella* em Suínos, cujas diretrizes são bastante semelhantes às do programa finlandês, não têm trazido benefícios reais aos consumidores.

Ressalta-se, no entanto, que o número de participantes no programa é momentaneamente inferior àquele previsto inicialmente. De acordo com BLAHA (2004), a importância das medidas e a estratégia do programa não são entendidas por grande parte dos produtores. Significa que essas informações foram trabalhadas com deficiência junto aos produtores no momento da implantação do sistema. O programa é encarado como perigoso, por alguns. Deficiências no processamento e na transmissão dos dados também constituíram sérios entraves para a condução do programa.

No Brasil, foram observadas, em dois frigoríficos, prevalências de 26% e 70% de carcaças contaminadas. No primeiro, amostras do próprio animal foram

responsáveis pela contaminação de 25% das carcaças; 47% das contaminações tiveram origem de suínos abatidos anteriormente; e 28% das demais eram de amostras já existentes no frigorífico (pessoal e equipamentos). No segundo estudo, verificou-se que 4% das carcaças contaminadas possuíam amostras do próprio animal, 70% eram originárias de suínos abatidos anteriormente e 26% tinham origem de contaminações do próprio frigorífico (KICH et al., 2007). Esse estudo demonstrou de maneira clara que tanto a diferença entre as plantas frigoríficas como a contaminação cruzada são importantes pontos críticos e boas práticas de fabricação devem ser observadas. Conseqüentemente, a necessidade de implantação de programa específico de controle de *Salmonella* em nosso país é justificável.

III. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais

Para o trabalho, utilizaram-se seis animais de linhagem comercial “Topigs”, independentemente do sexo e pertencentes a uma mesma leitegada. Foram adquiridos de granja com bons padrões de sanidade, localizada na cidade de Colina, Estado de São Paulo. Para assegurar que os animais não estavam infectados com *Salmonella*, realizou-se levantamento prévio, colhendo e avaliando-se amostras fecais de cinco porcas, ainda em fase de gestação. Após o parto, uma das porcas foi aleatoriamente selecionada e novas amostras foram colhidas e avaliadas, agora envolvendo toda a leitegada e o piso das baias. As análises foram realizadas no Laboratório de Pesquisa em Suínos do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da Unesp - Campus de Jaboticabal.

Vinte e um dias após o nascimento, os animais foram desmamados e trazidos para o laboratório, sendo alojados em baia previamente limpa, desinfetada e equipada com escamoteador, comedouro e bebedouro. Nesse mesmo dia, por meio de punção venosa, foram colhidas amostras de sangue da porca (10 mL) e de cada leitão (5 mL), para posterior exame sorológico, visando detecção de anticorpos anti-*Salmonella spp.*

Os animais tiveram um período de adaptação de sete dias. Durante esse período, foram realizadas observações clínicas para presença ou ausência de diarreia. Nesse período, suabes retais, *pool* de fezes das baias, amostras de ração e de água foram colhidas, a intervalos de dois dias, para monitoramento pré-inoculatório para *Salmonella spp.*

3.2 Isoladores

Concluído o período de monitoramento, com resultados todos negativos para a presença de *Salmonella*, os animais foram aleatoriamente alojados, em grupos de dois, em três câmaras isoladoras, medindo 0,8 m de largura x 0,8 m de altura x 1,3 m de comprimento, construídas especialmente para este estudo, com base em câmara de isolamento empregada em estudo sobre transmissão aérea de microrganismos (TORREMORELL et al., 1997). No caso presente, os isoladores eram móveis, construídos em aço inoxidável e vidro (Marconi Equipamentos para Laboratório, Piracicaba, SP, Brasil) e equipados com comedouros e bebedouros reabastecíveis (Figuras 1 e 2). Eram dotados de luvas externas, de cano longo, adaptadas às suas paredes laterais, e de pré-câmara (câmara de passagem), com portas externa e interna, que viabilizavam a colheita de amostras, sem perigo de contaminação, durante o período experimental. Possuíam finalmente filtros HEPA, que garantiam a filtragem do ar tanto na entrada quanto na saída do sistema, garantindo o completo isolamento dos animais.

3.3 Ração e água

A ração fornecida aos animais foi processada na Fábrica de Rações da Unesp *Campus* de Jaboticabal, não possuía antibióticos, aditivos ou farinhas animais em sua composição. O único ingrediente de origem animal foi o soro de leite. A ração foi formulada para atender as exigências nutricionais mínimas para leitões, segundo ROSTAGNO et al. (2005), as quais se encontram na Tabela 1. A ração foi embalada em sacos plásticos apropriados e autoclavada. Da mesma forma, a água fornecida aos animais foi armazenada em vasilhame de 20 litros e autoclavada. Amostras da ração e da água foram colhidas para cultivo e análises microbiológicas.

3.4 Amostra de *Salmonella* Panama e preparo do inóculo

A amostra de *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorotipo Panama (registro Embrapa 8193), isolada originalmente de suínos no campo, foi gentilmente cedida pela Dr^a Jalusa Deon Kich, pesquisadora da Embrapa - Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves – Concórdia – SC (CNPSA). A cepa apresentava perfil de resistência a tetraciclina, estreptomicina, ampicilina, cloranfenicol, novobiocina, sulfametoxazol + trimetropina e sensibilidade a gentamicina, florfenicol, cefotoxina, cefalotina ciprofloxacina, ceftriaxona e polimicina.

Para garantir maior segurança nos resultados, a bactéria foi marcada, induzindo-se a resistência ao ácido nalidíxico por meio de várias tentativas em dias consecutivos até adquirir resistência a 50 µg. Além da amostra marcada, os meios de plaqueamento para isolamento bacteriológico também continham ácido nalidíxico, na concentração de 50 µg/mL. Para a indução de resistência, culturas puras de *S. Panama* foram inoculadas em caldo Luria-Bertani e incubadas em mesa agitadora orbital a 37°C por 18 horas. O caldo foi centrifugado a 1.500 rpm por 20 minutos, o sobrenadante foi descartado, e uma alçada do precipitado foi transferida para caldo Luria-Bertani contendo 10µg/mL de ácido nalidíxico. O procedimento foi repetido com concentrações crescentes de ácido nalidíxico (20, 30, 40µg/mL), até se obter a concentração final de 50µg/mL.

Para o preparo do inóculo, uma cultura pura de *Salmonella* Panama, resistente ao ácido nalidíxico, foi semeada em ágar nutriente (CM003, Oxoid) e incubada a 37°C por 16 a 18 horas. Uma alçada foi então semeada em ágar verde-brilhante modificado (CM329, Oxoid) suplementado com ácido nalidíxico (50µg/mL). Caldo Luria-Bertani foi pré-aquecido a 37°C, para evitar choque térmico, foi inoculado com uma colônia isolada do ágar verde-brilhante modificado e incubado em mesa agitadora orbital a 37°C por 18 horas. A quantificação do inóculo foi realizada pela técnica de diluição em solução salina de -1 a -12 e

contagem em placas de petri contendo ágar nutriente. Para a contagem, utilizaram-se dois pingos de 25µL em cada uma das concentrações. O inóculo utilizado continha $4,9 \times 10^9$ UFC/mL. A Figura 4 ilustra os procedimentos utilizados para o preparo do inóculo. Alíquotas de 3 mL foram usadas como inóculo oral, sendo lentamente administradas na região da faringe, utilizando-se seringa estéril. Os leitões foram submetidos a jejum alimentar e hídrico, 18 horas antes da inoculação e 30 minutos após a inoculação.

A amostra inoculada e outra amostra, resgatada dos animais ao final do período experimental, foram submetidas a teste de sensibilidade a antibióticos e quimioterápicos, visando análises comparativas do perfil de sensibilidade entre a amostra inoculada e a recuperada. Da mesma forma, as amostras recuperadas dos animais foram enviadas ao Instituto Adolfo Lutz, em São Paulo, para sorotipificação.

Tabela 1: Composição percentual da ração, elaborada pelo departamento de Zootecnia da Unesp *Campus* de Jaboticabal e fornecida aos leitões durante o período experimental. Jaboticabal, 2007.

Ingredientes	Composição Alimentar ¹
Milho	54,35
Farelo de soja	32,63
Soro de leite	5,00
Açúcar	1,00
Óleo	2,94
Fosfato bicálcico	1,74
Calcáreo	0,70
Sal	0,44
Lisina	0,51
Treonina	0,20
Metionina	0,10
Triptofano	0,02
Vitaminas	0,10
Minerais	0,25
Antioxidante	0,02
Total	100

¹ Composição calculada: proteína bruta: 20,67 %; energia digestível: 3470 Kcal/kg; cálcio: 0,86%; fósforo disponível: 0,46%; sódio 0,26%.

3.5 Desenho experimental

Antes do uso, os isoladores foram lavados com solução detergente, e então conectados, por meio de ductos medindo 0,8 m de comprimento e 0,2 m de diâmetro. Após a montagem, as baias foram fumigadas por meio da reação de permanganato de potássio (10 g) e formaldeído (20 mL). A conexão permitiu fluxo de ar único do ventilador para o exaustor. No trajeto, o ar foi direcionado para passar inicialmente pelo isolador 1 (animais-controle), em seguida pelo isolador 2 (animais inoculados) e, deste, para o isolador 3 (animais-sentinela). Tanto o ventilador (SteriFlow 500, Filtracom Ltda., Campinas, SP) como o exaustor (ExhaustFlow 500, Filtracom Ltda.) incluíam pré-filtros e filtros absolutos (HEPA), com 99,97% de eficiência para retenção de partículas com até 0,3 micrômetros. Os isoladores e os condutores de ar foram pulverizados internamente com solução de glutaraldeído a 37% e Cloreto de benzalcônio 50% (AVT500 Polysell Campinas, SP, Brasil), conforme instruções do fabricante. Após, o sistema foi fechado, assim permanecendo por 48 horas. Antes de alojar os animais, com o auxílio de suabes estéreis foram colhidas amostras das paredes internas dos isoladores e dos condutores de ar para análises microbiológicas.

No dia da inoculação, os animais foram aleatoriamente distribuídos em grupos de dois e alojados no isolador 1 (controles - C1 e C2), no isolador 2 (infectados – I3 e I4) e no isolador 3 (sentinelas – S5 e S6). Imediatamente antes de ser alojado, cada animal dos grupos controle e sentinela recebeu, via oral, 3 mL de caldo Luria-Bertani estéril. Da mesma forma, cada um dos leitões do grupo infectado recebeu, pela mesma via, 3 mL do inóculo, ou seja, de caldo Lúria-Bertani com $4,9 \times 10^9$ UFC/mL de *S. Panama*. A Figura 3 ilustra o desenho experimental.

3.6 Colheita das amostras

Uma vez distribuídos nos isoladores, os animais permaneceram por um período de 14 dias, período em que foram colhidas diariamente amostras retais dos animais com auxílio de suabes e do ar dos isoladores colocando placas de ar contendo ágar verde-brilhante modificado na direção do fluxo de ar. Tubos com tampa rosqueável contendo meio de cultura e placas de ágar embaladas eram transferidos para o interior dos isoladores através da câmara de passagem, a qual era sempre desinfetada, antes e após o uso. Amostras de sangue foram colhidas no início, quando os animais foram trazidos ao laboratório, após o desmame aos 21 dias de idade e ao final do experimento 14 dias após a administração do inóculo (14 DPI). Após coagulação, o soro foi separado, mediante centrifugação, e as amostras foram armazenadas em tubos eppendorf a – 20º C, até o momento da análise.

3.7 Necropsia

Quatorze dias após receberem o inóculo os suínos foram eutanasiados de acordo com procedimento aprovado pela Comissão de Bem-Estar Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal (CEBEA-FCAV). Amostras de tonsilas palatinas, linfonodos (mandibulares, ileocólicos e mesentéricos), pulmões, fígado, baço, fragmentos de jejuno e íleo (10 cm) e conteúdo cecal foram colhidos assepticamente, utilizando luvas descartáveis e material estéril para cada tecido. As amostras foram colocadas em sacos plásticos estéreis (B01065WA, Whirl-pak, Nasco, Fort-Atkinson, WI, EUA) e mantidas sob refrigeração por até duas horas até o processamento bacteriológico.

3.8 Bacteriologia

A Figura 4 representa o fluxograma de isolamento microbiológico utilizado no experimento. As amostras retais foram enriquecidas em caldo GN-Hajna (GN broth, Hajna, 248610, Difco, Franklin Lakes, NJ, EUA) a 37°C por 18 a 24 horas. Alíquotas de 1 e 0,1 mL foram então transferidas para 9 mL de caldo tetrationato Müller-Kauffmann (TMK, CM343, Oxoid) e 9,9 mL de caldo Rappaport-Vassiliadis peptona de soja (RV, CM866, Oxoid), os quais foram incubados a 37°C por 48 horas e a 42°C por 24 horas, respectivamente. Posteriormente, foram semeados em placas ágar xilose-lisina-tergitol 4 (Bacto XLT 4, 223420, Difco) e ágar verde-brilhante modificado (CM329, Oxoid), ambos suplementados com ácido nalidíxico (50 µg /mL), (Figuras 5 e 6).

As amostras de tecido foram processadas de acordo com HURD et al. (2001). Os linfonodos foram imersos em etanol a 95%, flambados e transferidos para sacos plásticos estéreis. Água peptonada tamponada foi adicionada na proporção 1:10, e cada amostra foi homogeneizada (260 rpm, 1 min) com auxílio de equipamento apropriado (homogeneizador de amostras patogênicas, MA440/CF, Marconi). Após cultivo a 37°C por uma noite, alíquotas de 1 e 0,1 mL foram transferidas para 9 mL de TMK e 9,9 mL de RV, respectivamente. As amostras foram semeadas em ágar XLT 4 e ágar verde-brilhante modificado, ambos suplementados com ácido nalidíxico (50 µg/mL), e incubadas por 24 horas a 37°C.

Amostras de ar foram colhidas de acordo com MITCHELL et al. (2002). Placas de petri contendo ágar verde-brilhante modificado foram colocadas por 10 minutos na entrada do ducto de ar em cada isolador e incubadas a 37°C por 24 horas.

Isolados apresentando resultados bioquímicos característicos do gênero *Salmonella*, em ágar tríplice-açúcar-ferro (CM277, Oxoid) (Figura 7) e ágar ferro-lisina (CM381, Oxoid), foram confirmados por aglutinação em lâmina utilizando anti-soro polivalente antiantígenos O (poli-O) e soro antiantígenos contra

Salmonella grupo D (Probac do Brasil, São Paulo, SP, Brasil). Como já referido, as amostras positivas para sorologia foram enviadas ao Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, para sorotipificação.

3.9 Sorologia (ELISA)

A presença de anticorpos anti-*Salmonella* nas amostras de soro foi avaliada por ensaio imunoenzimático (ELISA) contra antígenos lipopolissacarídeos de *Salmonella*. As análises foram realizadas na Embrapa Suínos e Aves (Concórdia SC, Brasil). Os resultados foram expressos em densidade óptica calibrada média.

3.10 Análise dos resultados

Com base no modelo experimental proposto, o movimento de ar entre os isoladores foi considerado o único mecanismo possível para a dispersão de *S. Panama* no interior do sistema. Admitiu-se que o isolamento de *Salmonella* Panama - dos animais sentinela - de amostras com idêntico perfil de resistência e susceptibilidade aos antibióticos e mesmas características morfológicas, bioquímicas e antigênicas da amostra inoculada seria suficiente para a demonstração e aceitação de que a transmissão do agente por via aérea é viável e verdadeira, dispensando, sob qualquer aspecto, avaliações estatísticas ou qualquer outro tipo de análise.



Figura 1: Baia isoladora para estudos epidemiológicos de transmissão de agentes infecciosos em suínos – (a) tubos de ar e conectores; (b) câmara de passagem, (c) luvas externas que permitiram acesso ao interior do isolador para contenção e colheita das amostras; (d) bebedouro e reservatório de água e (e) saco para depósito de dejetos.



Figura 2: Posicionamento dos isoladores e das respectivas conexões para o estudo da transmissão aérea de *Salmonella* – (1) isolador para animais-controle; (2) animais infectados e (3) animais-sentinelas. As setas amarelas indicam o fluxo unidirecional do ar. (a) câmara de passagem; (b) reservatório de ração; (c) luvas para colheitas de amostras.

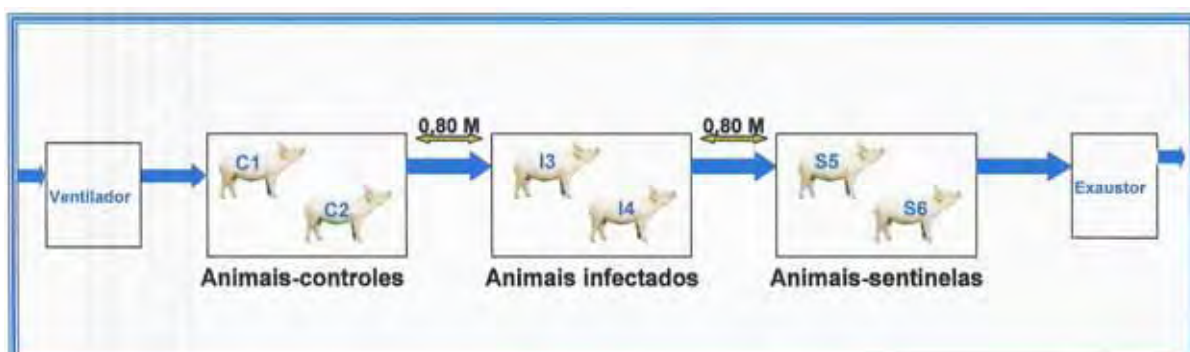


Figura 3: Desenho experimental esquematizando a montagem e a disposição das baias isoladoras. A seta indica a direção do ar filtrado do sentido ventilador ao exaustor passando primeiramente pela baia dos animais-controle, animais infectados (*Salmonella* Panama^{NAI+}) e animais-sentinela respectivamente Jaboticabal, 2007

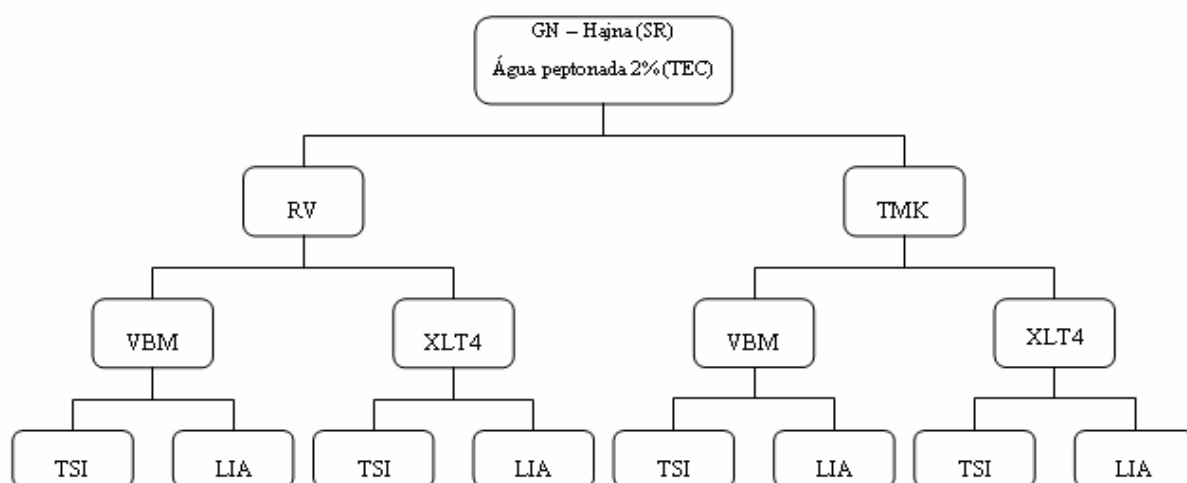


Figura 4: Representação em fluxograma do protocolo para isolamento microbiológico de *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorotipo Panama, durante os 14 dias de colheita de amostras (suabes retais) de suínos



Figura 5: Colônias negras de *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorotipo Panama^{NAI+}, em ágar xilose-lisina tergitol 4 (XLT4) isoladas de suínos experimentalmente infectados para o estudo da transmissão aérea. Jaboticabal, 2007.



Figura 6: *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorotipo Panama^{NAI+}, em ágar verde brilhante modificado isoladas de suínos experimentalmente infectados para o estudo da transmissão aérea. Jaboticabal, 2007.



Figura 7: Prova bioquímica em ágar tríplice-açúca-ferro (TSI) demonstrando, o aspecto característico de cultura de *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorotipo Panama^{NAH+} isoladas de suínos experimentalmente infectados para o estudo da transmissão aérea. Jaboticabal, 2007.

IV. RESULTADOS

Todos os controles realizados durante o período pré-inoculatório, objetivando monitorar a condição dos leitões em relação à presença de *Salmonella spp.*, demonstraram que os animais não estavam excretando o agente (Tabela 2). As amostras constituíram-se de fezes colhidas diretamente do reto dos animais usando suabes.

Tabela 2: Resultados encontrados em análises microbiológicas de suínos desmamados aos 21 dias de idade durante o período de adaptação pré-experimental. Este período corresponde a sete dias com colheitas de amostras de fezes do reto com auxílio de suabes a cada dois dias. Jaboticabal, 2007.

ANIMAIS						
DA	L1	L2	L3	L4	L5	L6
1	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-

DA – dias de adaptação; L1, L2, L3, L4, L5 L6 – Leitões 1 a 6 respectivamente

Os isoladores, após sofrerem procedimento de limpeza e desinfecção como descrito anteriormente, também foram amostrados com auxílio de suabes antes do alojamento dos animais. Da mesma maneira, realizou-se a amostragem dos ductos conectores de ar. Amostras de ração e da água de beber também foram submetidas a exames microbiológicos. As amostras foram colhidas durante o período de adaptação em intervalos de dois dias, totalizando 4 dias. O resultado negativo para todas as amostras pode ser visualizado na tabela 3.

Tabela 3: Avaliação microbiológica realizada em baias isoladoras experimentais antes do alojamento de suínos desmamados aos 21 dias de idade após procedimento de limpeza e desinfecção. Jaboticabal, 2007.

	DIAS DE ADAPTAÇÃO			
	1	3	5	7
ISOLADOR 1	-	-	-	-
ISOLADOR 2	-	-	-	-
ISOLADOR 3	-	-	-	-
TUBULAÇÃO	-	-	-	-
RAÇÃO	-	-	-	-
ÁGUA	-	-	-	-

Dias de adaptação são alternados em intervalos de dois dias

Nos dois dias subseqüentes à inoculação oral com *Salmonella enterica*, subsp. *enterica*, sorotipo Panama, os animais infectados apresentaram redução do apetite e apatia. Apesar dos animais inoculados eliminarem diariamente *Salmonella* nas fezes, durante todo o período experimental, nenhuma outra alteração clínica foi observada, e a partir do terceiro dia pós-inoculação os animais se recuperaram, revelando boa disposição e adequado consumo de ração, comparados aos leitões dos grupos controle e sentinela, que se mostraram perfeitamente saudáveis durante todo o transcurso do período experimental.

O exame bacteriológico das fezes dos animais dos três grupos experimentais revelou resultados positivos apenas para os animais do grupo inoculado. Nestes, a presença de *S. Panama*^{nal+} foi detectada diariamente do primeiro ao décimo quarto dias após a infecção (Tabela 4).

O cultivo das amostras dos diversos tecidos, colhidas durante o exame necroscópico, demonstrou, da mesma forma, resultados positivos apenas para os animais inoculados. Para todos os outros leitões, pertencentes aos grupos controle e sentinela, não foi possível o isolamento da amostra inoculada. Comparando os resultados dos exames microbiológicos dos órgãos internos dos

animais inoculados, pode-se verificar que são quase que totalmente concordantes. Isolou-se *Salmonella* Panama^{nal+} das amostras do baço, do jejuno, do íleo, do conteúdo do ceco e dos linfonodos mandibulares, íleo-cólicos e mesentéricos. Dos demais tecidos – tonsilas, pulmões e fígado - a bactéria também foi recuperada, mas de apenas um dos dois animais inoculados (Tabela 5). Estes resultados comprovam que houve infecção sistêmica nos animais do grupo infectado.

Tabela 4: Resultados da detecção de *Salmonella* Panama^{NAI+} pelo isolamento bacteriológico a partir de amostras de suabes retais colhidos individualmente dos suínos experimentalmente infectados para o estudo da transmissão aérea. Jaboticabal, 2007.

DPI	Isolador 1 (animais controle)		Isolador 2 (animais inoculados)		Isolador 3 (animais sentinelas)	
	C1	C2	I3	I4	S5	S6
1º	-	-	+	+	-	-
2º	-	-	+	+	-	-
3º	-	-	+	+	-	-
4º	-	-	+	+	-	-
5º	-	-	+	+	-	-
6º	-	-	+	+	-	-
7º	-	-	+	+	-	-
8º	-	-	+	+	-	-
9º	-	-	+	+	-	-
10º	-	-	+	+	-	-
11º	-	-	+	+	-	-
12º	-	-	+	+	-	-
13º	-	-	+	+	-	-
14º	-	-	+	+	-	-

DPI – dias após inoculação; C1 e C2 - animais-controle; I3 e I4 - animais infectados; S5 e S6 animais-sentinelas; (-) Negativo; (+) Positivo

Tabela 5: Resultados da detecção de *Salmonella* Panama^{NAI+} pelo isolamento bacteriológico a partir de amostras de tecidos de suínos após 14 dias da inoculação. Jaboticabal, 2007.

Tecidos	Animais controle (C)		Animais inoculados (I)		Animais sentinelas (S)	
	C1	C2	I3	I4	S5	S6
L. mandibulares	-	-	+	+	-	-
Tonsilas	-	-	-	+	-	-
Pulmões	-	-	-	+	-	-
Fígado	-	-	+	-	-	-
Baço	-	-	+	+	-	-
L. íleo-cólicos	-	-	+	+	-	-
L. mesentérios	-	-	+	+	-	-
Jejuno	-	-	+	+	-	-
Íleo	-	-	+	+	-	-
Conteúdo do ceco	-	-	+	+	-	-

C1 e C2 - animais-controle; I3 e I4 - animais infectados; S5 e S6 animais-sentinelas; L. – linfonodos; (-) Negativo; (+) Positivo

As avaliações sorológicas, realizadas em amostras de sangue, colhidas da porca e de seus leitões no período pré-inoculatório, revelaram resultados positivos para a porca e para dois leitões, um no grupo controle e o outro no sentinela. O mesmo exame, realizado apenas para os leitões no 14º dia pós-infecção, mostrou resultado positivo apenas para um dos leitões, alocado no grupo sentinela. Todos os demais leitões, incluindo os inoculados, revelaram sorologia negativa (Tabela 6).

Tabela 6: Resultados sorológicos observados em soro sanguíneo de suínos antes e após o período de inoculação experimental com *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorotipo Panama^{NAI+}. Jaboticabal, 2007.

Animais	Período pré- inoculatório	14 DPI
Porca	Positivo	-
C1	Negativo	Negativo
C2	Positivo	Negativo
I3	Negativo	Negativo
I4	Negativo	Negativo
S5	Negativo	Negativo
S6	Positivo	Negativo

V. DISCUSSÃO

Com o presente trabalho objetivou-se avaliar a importância da via aérea como forma de transmissão de *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorotipo Panama entre leitões desmamados. Conforme evidenciam os resultados, não foi possível demonstrar a transferência do agente, inoculado por via oral em dois leitões, a outro grupo de dois leitões, alojados em ambiente isolado e contíguo. Sendo o ar o único elemento de contacto entre estes dois grupos de leitões – o grupo infectado e o grupo sentinela - não se verificou, conseqüentemente, a transferência aérea do agente entre os dois grupos experimentais referidos. Estes resultados corroboram os encontrados em estudo semelhante realizado em nosso Laboratório, por FRESCHI (2007), no qual a transmissão aérea de *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorotipo Derby também não ocorreu. Ambos os resultados, contudo, diferem de outros trabalhos realizados em outras espécies (TANNOCK & SMITH, 1971; WATHES et al., 1988; LEVER & WILLIAMS, 1996). Na espécie suína, a doença foi reproduzida por FEDORKA-CRAY et al. (1995), ao inocularem, pela via nasal, suínos esofagotomizados. Os resultados diferem, ainda, daqueles obtidos por OLIVEIRA (2005), também em nosso Laboratório, que demonstrou de maneira clara e inédita a transmissão aerógena de *Salmonella* Typhimurium e Agona, entre suínos desmamados.

A transmissão de *Salmonella* pela via aerógena é, desta forma, algo possível. Conforme já demonstrado por outros pesquisadores, como MINEV et al. (1981) e PROUX et al. (2001), salmonelas podem ser isoladas do ar ambiente, indicando, sem dúvidas, a importância que a via aerógena pode ter na epidemiologia da salmonelose. Os resultados verificados em ensaios realizados com o sorotipo Derby e agora com o sorotipo Panama revelaram, contudo, que a via aérea parece não ter a mesma importância para todos os sorotipos. Sabe-se que existem diferenças biológicas dentro do gênero *Salmonella*, em que alguns sorotipos são mais patogênicos do que outros. A *Salmonella* Typhimurium representa, atualmente, o principal sorotipo isolado dos suínos (SCHAWRTZ, 1999; BAGGESEN & WENEGER, 2004).

Afora o aspecto patogenicidade, também a diferente virulência entre sorotipos pode ser aventada para explicar os diferentes resultados registrados nos estudos já realizados. Muitas são as hipóteses para que a transmissão não tenha ocorrido. O que há de seguro, para o presente estudo, é que a infecção induzida experimentalmente realmente se estabeleceu. Conforme demonstram os resultados da Tabela 4, os animais que receberam o inóculo excretaram a bactéria pelas fezes durante todo o período experimental, tendo se evidenciado, após a necropsia destes animais, que a infecção não ficou restrita aos intestinos, mas se difundiu a outros órgãos e estruturas internas (Tabela 5). Produziu-se, desta forma, a infecção sistêmica dos animais inoculados.

Embora possa haver variações entre bactérias e sorotipo, é sabido que as infecções só se estabelecem se o inóculo possuir concentrações elevadas da bactéria. Desta forma, a baixa excreção de *Salmonella* pelos animais infectados pode representar outro fator a justificar a não transferência do microrganismo do grupo infectado para o grupo sentinela. Estudos futuros deveriam incluir na metodologia a titulação da quantidade de bactérias que é excretada, na dependência do sorotipo respectivamente envolvido.

Os exames sorológicos, realizados para detectar a presença de títulos contra *Salmonella* no sangue da porca ou dos leitões, no presente trabalho, mostraram resultados positivos para a porca, um dos leitões do grupo controle e um dos leitões do grupo sentinela. Sem dúvidas, isso poderia justificar, em parte, a não transferência do agente entre o grupo infectado e os animais sentinela. A imunidade passiva, transferida da porca a seus leitões, poderia ter evitado que os animais adquirissem a infecção, mesmo que tivessem tido o contacto com a bactéria. Algumas questões, de qualquer forma, merecem avaliação.

- Por que apenas dois dos seis leitões apresentaram sorologia positiva? -
- Por que estes animais, inclusive os inoculados, apresentaram sorologia negativa no segundo exame, realizado duas semanas depois?

Sabe-se que a partir da terceira semana pós-nascimento ocorre diminuição gradativa da imunidade colostrar (ROTH, 199). Tal fato possivelmente justifique os resultados da sorologia pré-inoculatória negativa observada em quatro dos seis leitões envolvidos neste estudo. Os outros dois, possivelmente, ainda conservavam títulos suficientes para soropositividade no momento dos exames.

O teste de ELISA, usado neste trabalho, detecta anticorpos tipo IgG apenas após dado período, necessário à soroconversão. De acordo com NIELSEN et al (1995), nas infecções por *Salmonella* spp. este período varia de 7 a 22 dias, havendo diferenças na detecção de anticorpos dependentes do sorotipo envolvido. Para *Salmonella* Panama, a detecção de anticorpos apresentou-se ausente ou em baixos níveis (VAN WINSEN et al., 2001). Estas informações justificam a negatividade do teste de ELISA nas amostras colhidas dos animais inoculados ao término do experimento (14 DPI). Possivelmente, se o período experimental se estendesse por mais uma ou duas semanas, estes animais soroconverteriam.

Em síntese, os resultados obtidos neste estudo e em outros, realizados em nosso Laboratório e por diversos outros pesquisadores, revelam que o comportamento dos inúmeros sorotipos de *Salmonella* é bastante variável, em relação a diversos aspectos. Muitos outros estudos serão necessários até que se consiga adequado conhecimento da epidemiologia desta infecção, deveras importante sob o aspecto de saúde pública.

V.I. CONCLUSÕES

Com base no material e na metodologia empregados no presente estudo foi possível demonstrar que:

- A infecção experimental de suínos com *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorotipo Panama mostrou-se importante para os suínos.
- Não foi possível demonstrar a transferência aérea do agente entre leitões desmamados.

VI. REFERÊNCIAS

- ALBAN, L.; STEGE, H.; DAHL, J. The new classification system for slaughter-pig herds in the Danish *Salmonella* surveillance-and-control program. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 53, n. 1-2, p. 133-146, 2002.
- ALBAN, L.; STÄRK, K.D.C. Where should the effort be put to reduce the *Salmonella* prevalence in the slaughtered swine carcass effectively. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 68, n. 1, p. 63-79, 2005.
- BAGER, F.; PETERSEN, J. Sensitivity and specificity of different methods for the isolation of *Salmonella* from pigs. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 32, p. 473-481, 1991.
- BAGGESEN, D.L.; WEGENER. Phage types of *Salmonella enterica* ssp. *enterica* serovar typhimurium isolated from productions animals and humans in Denmark. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 35, n. 4, p. 349-354, 2004
- BARBER, D. A.; BAHNSON, P.B.; ISAACSON, R.; JONES, C.J.; WEIGEL, R.M. Distribution of *Salmonella* in swine production ecosystems. **Journal of Food Protection**, v. 65, n. 12, p. 1861-1868, 2002.
- BELCEIL, P.A.; FRAVALO, P. FLABET, C.; JOLLY, J.P.; EVENO, E.; HASCOET, Y.; CHAUVIN, C.; SALVAT, G.; MADEC, F. Risk factors for *Salmonella enterica* subsp. *enterica* shedding by market-age pigs in French farrow-to-finish herds. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 63, n. 1-2, p. 103-120, 2004.
- BERENDS, B. R. URLINGNS, H. A.P. SNIDJERS, J.M.A.; KNAPEN F. Identification and quantification of risk factors in animal management and transport regarding *Salmonella* spp in pigs. **Internacional Journal of Food Microbiololgy**, v.30, p.37-53,1996.
- BESSA, M. C.; COSTA, M.; CARDOSO M. Prevalência de *Salmonella* em suínos abatidos em frigoríficos do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.24, n2, p. 80-84, 2004.

BLAHA, T. Up-to -date information from the German Qs salmonella monitoring and reduction programme. **Deutsche Tierärztliche Wochenschrift**, v. 111, n. 8, p. 324-326, 2004.

BORCH, E.; NESBAKKEN, T.; CHRISTENSEN, H. Hazard identification in swine slaughter with respect to foodborne bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, v. 30, n. 1-2, p. 9-25, 1996.

BOTTELDOORN, N.; HEYNDRICHX, M.; RIJSENS, N.; GRIJSPEERDT, K.; HERMAN, I. *Salmonella* on pig carcasses: positive pigs and cross contamination on the slaughterhouse. **Journal of Applied Microbiology**, v. 95, p. 891-903, 2003.

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

CARLSON, A.R.; BLAHA, T. In-herd prevalence of *Salmonella* in 25 selected Minnesota swine farms. **Journal of Swine Health and Production**, v. 9, n.1, p. 7-10, 2001.

CASTAGNA, S.M.F.; SCHWARZ, P.; CANAL, C.W.; CARDOSO, M. Presença de *Salmonella* sp. no trato intestinal e em tonsilas/linfonodos submandibulares de suínos ao abate. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.56, n. 3, p. 300-306, 2004.

CHRISTENSEN, J.; BAGGESEN, D. L.; NIELSEN, B.; STRYHN H. Herd prevalence of *Salmonella* spp. in Danish pig herds after implementation of the Danish *Salmonella* Control Program with reference to a pre-implementation study. **Veterinary Microbiology**, v. 88, n. 2, p. 175-188, 2002.

DAHL, J.; WINGSTRAND, B.; NIELSEN, B. Elimination of *Salmonella* Typhimurium infection by the strategic movement of pigs. **The Veterinary Record**, v. 140, n. 26, p.679-681, 1997.

DAVIES, P.R. Food safety and access to domestic and export markets. **Swine Health and Production**, v.5, p.10-17, 1997a.

DAVIES, P.R.; MORROW, W.E.M.; JONES, F.T.; DEEN, J.; FEDORKA-CRAY, P.J.; GRAY, J.T. Risk of shedding of *Salmonella* by market-age hogs in a barn with open flush gutters. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.210, p.386-389, 1997b.

DAVIES, P.R.; BOVEE, F.G.E.M.; FUNK, J.A.; W.E.M. MORROW; JONES, F.T.; DEEN, J. Isolation of *Salmonella* serotypes from feces of pigs raised in a multiple site production system. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 212, n. 12, p. 1925-1929, 1998.

DAVIES, P.R.; FUNK, J. Epidemiology and control of salmonella in pork-some of the questions. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE EPIDEMIOLOGY AND CONTROL OF *SALMONELLA* IN PORK, 3, 1999, Washington D.C. **Proceedings**...Washington: Biomedical Communications Center, 1999. p. 1-11.

DAVIES, P.R.; TURKSON, P.K.; FUNK, J.A.; NICHOLS, M.A.; LADELY, S.R.; FEDORKA-CRAY, P.J. Comparison of methods for isolating *Salmonella* bacteria from faeces of naturally infected pigs. **Journal of Applied Microbiology**, v. 89, p. 169-177, 2000.

DESOL, A.A.; ANIUM, M.; WOODWARD, M.J.; SUNDERLAND, J.; ROE, J.M. The effect of chlortetracycline treatment and its subsequent withdrawal on multi-resistant *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT104 and comensal *Escherichia coli* in the pig. **Journal of Applied Microbiology**, v.95, p.1226-1234, 2003.

DEVI, S.J.; MURRAY, C.J. Cockroaches as reservoirs of drug-resistant salmonellas. **Epidemiology and Infection**, v. 107, n .2, p. 357-361, 1991.

EDWARDS, P.R.; EWING,W.H. Identification of *Enterobacteriaceae*. 4 ed. New York: **Elsevier Science**, 1986. p. 181-245.

EKPERRIGIN, H.E.; NAGARAJA, K.V. *Salmonella*. In: VASSALO, V. The veterinary clinics of north America: food and animal practice. Philadelphia: W.B. Saunders, p. 17-29, 1998.

ELD, K.; GUNNARSSON, A.; HOLMBERG, T.; HURVELL, B.; WIERUP, M. *Salmonella* isolated from animals and feedstuffs in Sweden during 1983-1987. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 32, n. 2, p. 261-277, 1991.

EUZÉBY, J.P. Revised *Salmonella* nomenclature: designation of *Salmonella enterica* (ex Kauffmann and Edwards 1952) Le minor and Popoff 1987 sp. nov., nom. rev. as the neotypes species of the genus *Salmonella* lignieres 1900 (approved lists 1980), rejection of the name *Salmonella cholerasuis* (Smith 1894) Weldin 1927 (approved lists 1980), and conservation of the name *Salmonella Typhi* (Schroeter 1886) Warren and Scott 1930 (approved lists 1980). Request for an opinion. **International Journal of Systemic Bacteriology**, v. 49, p. 927-930, 1999.

EVANS, M.C.; WEGENER, H. Antimicrobial growth porters and *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. in poultry and swine, Denmark. **Emerging Infectious Diseases**, v. 9, n. 4, p. 489-492, 2003.

FEDER, I.; NIETFELD, J.C.; KELLY, B.; BUTINE, M.D.; MCNAMARA, P.; CHENGAPPA M.M.. Evaluation of enrichment tecncis for the isolation of *Salmonella cholerasuis* from swine feces. **Journal of Microbiological Methods**, v. 33, n.2, p. 143-151, 1998.

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.

FEDORKA-CRAY, P.J.; KELLEY, L.C.; STABEL, T.J.; GRAY, J.T.; LAUFER, J.A. Alternative routes of invasion may affect pathogenesis of *Salmonella typhimurium* in swine. **Infection and Immunity**, v. 63, p. 2658-2664, 1995.

FEDORKA – CRAY; GRAY, J.T.; WRAY, C. *Salmonella* infections in pigs. In: WRAY, C.; WRAY, A. (Ed.). **Salmonella in Domestic Animals**, 2000, 463p.

FRESCHI, C. R. **Estudo experimental sobre as vias de transmissão de *Salmonella* Derby em suínos**. 2007. 62f. Tese (Doutorado em Clínica Médica

Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, São Paulo, 2007.

FUNK, J.A.; DAVIES, P.R.; NICHOLS, M.A. Longitudinal study of *Salmonella* enterica in growing pigs reared in multiple-site production systems. **Veterinary Microbiology**, v. 83, n. 1, p. 45-60, 2001a.

FUNK, J.A.; DAVIES, P.R.; GEBREYES, W. Risk factors associated with *Salmonella* enterica prevalence in three- site swine production systems in North Carolina, USA. **Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift**, v. 144, p. 335-338, 2001b.

FUNK, J.A.; GEBREYES, W.A. Risk factors associated with *Salmonella* prevalence on swine farms. **Journal of Swine Health and Production**, v. 12, p. 246-251, 2004.

GARCIA, T.B. **Transmissão experimental de *Salmonella* Agona e *Salmonella* Typhimurium entre suínos desmamados pelo contato naso-nasal**. 2006. 29 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, São Paulo, 2006.

GAST, R. K.; Mitchell, B.W.; Holt, P.S.. Airborne transmission of *Salmonella* enteritidis infection between groups of chicks in controlled-environment isolation cabinets. **Avian diseases**, v. 42, n.2, p. 315-320, 1998.

GHOSH, A. C. An epidemiological study of the incidence of salmonellas in pigs in Great Britain. **Pig Journal**, v. 37, p. 59-64, 1972.

GRESHAM, A.C.J. An old disease of increasing significance-*Salmonella* infection in pigs in Great Britain. **Pig Journal**, v. 37, p. 59-64, 1996.

HARDMAN, P.M.; WHATES, C.M.; WRAY, C. Transmission of salmonellae among calves penned individually. **The Veterinary Record**, v.129, p. 327-329, 1991.

HARRIS, I.T.; FEDORKA-CRAY, P.J.; GRAY, J.T.; THOMAS, L.A.; FERRIS, K. Prevalence of *Salmonella* organisms in swine feed. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 210, p. 382-385, 1997.

HARVEY, R.W.S.; PRICE, T.H.; MORGAN, J. J. *Salmonella* surveillance with reference to pigs-Cradiff abattoir, 1968-1975. **The Journal of Hygiene**, v. 78, p. 439-448, 1977.

HEARD, T. W.; LINTON, H.A. An epidemiologic study of *Salmonella* in a closed pig herd. **The Journal of Hygiene**, v. 64, p. 411-417, 1966.

HEARD, T. W. Housing and salmonella infections. **The Veterinary Record**, v. 85, n. 18, p. 482-484, 1969.

HENKEN, A.M.; FRANKENA, K.; GOELEMA, J.O.; GRAAT, E.A.; NOORDHUIZEN J.P. Multivariate epidemiological approach to salmonellosis in broiler breeder flock. **Poultry Science**, v. 71, n. 5, p. 838-843, 1992.

HUMPHREY, T. Important and relevant attributes of the *Salmonella* organism. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FOOD-BORN *SALMONELLA* IN POULTRY, 1998, Baltimore. **Proceedings...** Baltimore: American Association of Avian Pathologists,. p. 43-48 1998.

HURD, H.S, GAILEY, J.K.; McKEAN, J.D.; ROSTAGNO, M.H. Rapid infection in market-weight swine following exposure to a *Salmonella* Typhimurium-contaminated environment. **American Journal of Veterinary Research**, v. 62, n.8, p. 1194-1197, 2001.

JOSEPH, P.G. The *Salmonella* problem in animals and prospects for its control in livestock and man. **Tropical Biomedicine**, v. 5, p. 1-8, 1988.

KABAGAMBE, E. K. ; WELLS, S.J.; GRABER, L.P.; SALMAN, M.D.; WAGNER, B.; FEDORKA-CRAY, P.J. Risk factors for fecal shedding of *Salmonella* in 91 US dairy herds in 1996. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 43, n.3, p. 177-194, 2000.

KICH, J. D.; COLDEBELLA, A.; MORES, N.; FRATAMICO, P.M.; CALL J.E.; LUCHANSKY, I. Rastreabilidade da *Salmonella* do crescimento ao abate de suínos. In: CONGRESSO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS (ABRAVES), 13, 2007, Florianópolis, Brasil. **Anais...** p. 294-297.

KOLB, J.; ROOF, M.; BURKHART, K. Reduction of *Salmonella* in carcasses using Enterisol® SC-54 vaccination. In: INTERNACIONAL PIG VETERINARY SOCIETY CONGRESS, 17., 2002, Ames, Estados Unidos. **Proceedings**...14.

KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.D.; JANDA, W.M.; SCHRECKENBERGER, P.C.; WINN, W.C. Enterobacteriaceae **Diagnóstico Microbiológico – Texto e Atlas Colorido**, 5 ed., Editora Guanabara Koogan S.A., Rio de Janeiro, RJ, 2001. p. 177-262.

KRANKER, S.; ALBAN, L.; BOES, J.; DAHL, J. Longitudinal study of *Salmonella* enterica serotype Typhimurium infection in three Danish farrow-to-finish swine herds. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, n. 6, p. 2282-2288, 2003.

LABACVET 2007 Microbiologia veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Disponível em [http:// www.ufrgs.br/Labavet/pdf/entero.pdf](http://www.ufrgs.br/Labavet/pdf/entero.pdf). Acesso em 09/10/2007.

LANGENEGGER, C.H.; ALFINITO, J.; LANGENEGGER, J. Salmonelas isoladas de suínos de abate do Estado do Pará. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 3, n. 3, p. 91-94, 1983.

LAUTNER, B. Quality assurance in the U.S. **Pig Journal**, v. 39, p. 29-36, 1997.

LAX, A.J.; BARROW, P.A.; JONES, P.W.; WALLIS, T.S. Current perspectives in salmonellosis. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 151, p. 351-377, 1995.

LAZARO, M. 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.

LE MINOR, L.; POPOFF, M.Y. Request for an opinion. Designation of *Salmonella* enterica spp. nov., nom. ver., as the type and only species of the genus *Salmonella*. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 37, n. 4, p. 465-468, 1987.

LEE, J.A.; GHOSH, A.C.; MANN, P.G.; TEE, G.N. *Salmonellas* on pig farms and in abattoirs. **The Journal of Hygiene**, v.70, n.1, p.141-150, 1972.

LEONTIDES, L.S.; GRAFANAKIS, E.; GENIGEIRGIS, C. Factors associated with the serological prevalence of *Salmonella enterica* in Greek finishing swine herds. **Epidemiology and Infection**, v. 131, n. 1, p. 599-606, 2003.

LETELLIER, A.; MESSIER, S.; PARÉ, J.; MÉNARD, J.; QUESSY, S. Distribution of *Salmonella* in swine herds in Quebec. **Veterinary Microbiology**, v. 67, p. 299-306, 1999.

LEVER, M.S.; WILLIAMS, A. Cross infection of chicks by airborne transmission of *Salmonella enteritidis* PT4. **Letters in Applied Microbiology**, v. 23, p. 347-349, 1996.

LIEBANA, E.; GARCIA-MIGURA L.; CLOUTING, C.; CLIFTON-HADLEY, F.A.; BRESLIN M.; DAVIES R.H. Molecular fingerprinting evidence of the contribution of wild life vectors in the maintenance of Salmonella Enteritis in layer farms. **Journal of Applied Microbiology**, v. 94, n. 6, p. 1024-1029, 2003.

LINTON, A.H. Salmonellosis in pigs. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 139, p. 109-112, 1979

LO FO WONG, D.M.A.; HALD, T.(ed.).. *Salmonella* in pork: Pre-harvest and harvest control options based on epidemiologic, diagnostic and economic research: Final report. Copenhagen: Royal Veterinary and Agricultural University, 2000. 251p.

LO FO WONG, D.M.A.; DAHL, J.; STEGE, H.; WOLF, P.J.; LEONTIDES, L.; ALTROCK, A.; THORBERG, B.M. Herd level risk factors for subclinical *Salmonella* infection in European finishing-pig herds. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 62, n. 4, p. 253-266, 2004.

LUMSDEN, J.S.; WILKIE, B.N.; CLARKE, R.C. Resistance to faecal shedding in pigs and chickens vaccinate with an aromatic dependent mutant of *Salmonella* Typhimurium. **American Journal of Veterinary Research**, v. 52, n. 11, p. 1784-1787, 1991.

MAIJALA, R. RANTA, J.; SEUNA, E.; PELTOLA, J. The efficiency of the Finish *Salmonella* control program. **Food Control**, v. 16, n. 8, p. 669-675, 2005.

McDERMID, A.S.; LEVER, M.S. Survival of *Salmonella Enteritidis* PT4 and S. Typhimurium Swindon in aerosols. **Letters in Applied Microbiology**, v. 23, p. 107-109, 1996.

MINEV, M.; GRAVILOV, N.; NIKOLOV, N. Reproduction of salmonellosis in swine by aerosol infection. **Veterinarno-meditsinski nauki**, v. 18, p. 48-56, 1981.

MITCHELL, B.W.; BUHR, R.J.; BERRANG, M.E.; BAILEY, J.S.; COXT, N.A. Reducing airborne pathogens, dust and *Salmonella* transmission in experimental hatching cabinets using an electrostatic space charge system. **Poultry Science**, v. 81, n. 1, p. 49-55, 2002.

MØLBAK, K.; BAGGESEN, D.L.; AARESTRUP, F.M.; EBBESEN, J.M.; ENGBERG, J.; FRYDENDAHL, K.; GERNER-SMIDT, P.; PETERSEN, A.M.; WEGENER, H.C. An outbreak of multiresistant, quinilone- resistant *Salmonella enterica* serotype Typhimurium DT 104. **The New England Journal of Medicine**, v. 341, n. 19, p. 1420-1425, 1999.

MOUSING, J.; JENSEN, P.T.; HALGAARD, C.; BAGER, F.; FELD, N.; NIELSEN, B.; NIELSEN, J.P.; BECH-NIELSEN, S. Nation-wide *Salmonella enterica* surveillance and control in Danish slaughter swine herds. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 29, p. 247-61, 1997.

NEIVA, C. Incidência de salmonelas em suínos. **Memórias Instituto Butantan**, v. 7, p. 430-435, 1946.

NEWELL, K.W.; WILLIAMS, L.P. Jr. The control of salmonellae in swine and man. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 158, p. 89-98, 1970.

NIELSEN, B.; BAGGENSEN, D.; BAGER, F.; HAUGEGAARD, J.; LIND, P. The serological response to *Salmonella* serovars typhimurium and infantis in experimentally infected pigs. The time course followed with an indirect anti-LPS

ELISA and bacteriological examinations. **Veterinary Microbiology**, v. 47, p. 205-218, 1995.

NIELSEN, B.; ALBAN, L.; STEGE, H.; SØRENSEN, L.L.; MØGELMOSE, V.; BAGGER, J.; DAHL, J.; BAGGESEN, D.L. A new *Salmonella* surveillance and control program in Danish pig herds and slaughterhouses **Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift**, v. 114, n. 9-10, p. 323-326, 2001.

NIETFELD, J.C.; KELLY, B.; DRITZ, S.S.; FEDER, I.; GALLAND, J.C. Comparison of conventional and delayed secondary enrichment for isolation of *Salmonella* spp. from swine samples. **Journal of Veterinary Diagnostics Investigation**, v. 10, p. 285-287, 1998.

NOLLET, N.; MAES, D.; ZUTTER L.; DUCHATEAU, L.; HOULF, K.; HUYSMANS, K.; IMBERECHTS, H.; GEERS, R.; KRUIF, A.; HOOFF, J. Risk factors for the herd-level bacteriologic prevalence of *Salmonella* in Belgian slaughter pigs. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 65, n. 1-2, p. 63-75, 2004.

OLIVEIRA, C. J. B. **Importância da lâmina d'água, em galpões de terminação, sobre a prevalência de sorotipos de *Salmonella* em suínos destinados ao abate**. 2001. 64 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, São Paulo, 2001.

OLIVEIRA, C.J.B.; GARCIA, T.B.; CARVALHO, L.F.O.S. Experimental aerogenic transmission of *Salmonella* Agona in weaned pigs. In: INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY CONGRESS, 18, 2004, Hamburgo, Alemanha. **Proceedings....** Hamburgo, 2004. p. 653.

OLIVEIRA, C.J.B. **Transmissão aerógena experimental, prevalência ao abate após surto, diagnóstico em amostras de fezes e métodos de genotipagem de *Salmonella enterica* em suínos**. 2005.108 f Tese (doutorado em Clínica Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, São Paulo, 2005.

PEARCE, R. A.; BOLTON, D.J.; SHERIDAN, J.J.; McDOWELL, D.A.; BLAIR, I.S.; HARRINGTON, D. Studies to determine the critical control point in porc

slaughter. Hazard analysis and de critical control point systems. **International Journal of Food Microbiology**, v. 90, n. 3 , p. 331-339, 2004.

PESTANA, B.R.; RUGAI, E. O porco normal como portador de salmonelas. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 3, p.232-235, 1943.

PLYM-FORSHELL, L.; ESKEBO, I. Survival of *Salmonella* in urine and dry faeces from cattle- an experimental study. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 37, p. 127-131, 1996.

PROUX, K.; CARIOLET, R.; FRAVALO, P.; HOUDAYER, C.; KERANFLECH, A.; MADEC, F. Contamination of pigs by nose-to-nose contact or airborne transmission of *Salmonella* Typhimurium. **Veterinary Research**, v.32, n. 6, p. 591-600, 2001.

RAJIC, A.; KEENLISIDE, J.; McFALL, M.E.; DECKERT, A.E.; MUCKLE, A.C.; BRENDAN, P.O.; 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, 2005.

REFSUM, T.; HEIR, E.; KAPPERUD, G.; VARDUND, T.; HOLSTAD, G. Molecular epidemiology of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium isolates determined by pulse-field gel electrophoresis: comparison of isolates from avian wildlife, domestic animals, and the environment in Norway. **Applied Environmental Microbiology**, v. 68, n. 11, p. 5600-5606, 2002.

ROSTAGNO, M.H.; HURD, H.S.; McKEAN, J. D.; ZIEMER, C.J.; GAILEY, J.K.; LEITE, R.C. Pre slaughter holding environment in pork plants is highly contaminated with *Salmonella enterica*. **Appleid and Enrironmental Microbiology**, v. 69, n. 8, p. 4489-4494, 2003.

ROSTAGNO, H. S.; TEIXEIRA, L. F. A.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; OLIVEIRA, P. F.; LOPES, C. D.; FERREIRA, A. S.; TOLEDO, S. L. B. **Tabelas brasileiras para aves e suínos, composição de alimentos e exigências nutricionais de aves e suínos**; Viçosa: UFV, 2005, 186p.

ROTH, J.A. The immune system. In: STRAW, B.E.; D'ALLAIRE, S.; MENGELING, W.L.; TAYLOR, D.J. (Ed.). **Diseases of swine**, 8 ed. Oxford: Blackwell Science Ltd., 1999. p. 535-551.

ROWE, T.A.; LEONARD, F. C.; QUIRKE, A.M.; QUINN, P.J.; KELLY, G.; LYNCH, P.B.; EGAN, J. Salmonella serotypes present on samples of Irish pig farms. **Veterinary Research**, v. 153, n. 15, p. 453-456, 2003.

SANDBERG, M.; HOPP, P.; JARP, J.; SKJERVE, E. An evaluation of the Norwegian *Salmonella* surveillance and control program in live pig and pork. **International Journal of Food Microbiology**, v. 72, n. 1 p. 1-11, 2002.

SCHNURRENBERGER, P. R.; HELD, L.J.; MARTIN, R.J.; QUIST, K. D. ; GALTON, M.M. Prevalence of *Salmonella* spp in domestic animals and wildlife on selected Illinois farms. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 153, p. 442-445, 1968.

SCHWARTZ, K.J. Salmonellosis. In: STRAW, B.E.; D'ALLAIRE, S.; MENGELING, W.L.; TAYLOR, D.J. (Ed.). **Diseases of swine**, 8 ed. Oxford: Blackwell Science Ltd., 1999. p. 535-551.

SCHWARZ, P.; CALVEYRA, J.C.; KICH, J.D.; BOROWSKY, L.M.; HIROSE, F.; KOLB, J.; BARCELLOS, D.E.S.N.; CARDOSO, M. Uso de vacina viva atenuada para o controle da infecção por *Salmonella enterica* em rebanho suíno no Sul do Brasil. In: CONGRESSO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS (ABRAVES), 13, 2007, Florianópolis, Brasil. **Anais...** 1-2.

SØRENSEN, L.L.; ALBAN, L.; NIELSEN, B.; DAHL, J. The correlation between Salmonella serology and isolation of Salmonella in Danish pigs at slaughter. **Veterinary Microbiology**, v. 101, n. 2, p. 131-141, 2004.

SOUMET, C.; ERMEL, G.; FACH, P.; COLIN, P. Evaluation of different DNA extraction procedures for the detection of *Salmonella* from chicken products by polimerase chain reaction. **Letters in Applied Microbiology**, v. 19, p. 294-298, 1994.

STÄRK, K.D.C. The role of infectious aerosols in disease transmission in pigs. **The Veterinary Journal**, v.158, p. 154-161, 1999.

STEGE, H. CHISTENSEN, J.; NIELSEN, J.P.; WILLEBERG, P. Data-quality issues and alternative variable-screening methods in a questionnaire- based study on subclinical *Salmonella enterica* infection in Danish pigs herds. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 48, n. 1, p. 35-54, 2001.

TANNOCK, G.W.; SMITH J.M. A *Salmonella* carrier state involving the upper respiratory tract of mice, **Journal Infectious Diseases**. v. 123, n. 5, p. 502-506, 1971

TAUXE, V. *Salmonella*: a postmodern pathogen. **Journal of Food Protection**, v.54, p.202-203, 1991.

THORBERG, B.M.; ENGVALL, A. Incidence of *Salmonella* in five Swedish slaughterhouses. **Journal of Food Protection**, v. 64, n. 4, p. 542-545, 2001.

TORREMORELL, M.; PIJOAN, C.; JANNI, K.; WALKER, R.; JOO, H.S. Airborne transmission of *Actinobacillus pleuropneumoniae* and porcine reproductive and respiratory syndrome virus in nursery pigs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 58, p.828-832, 1997.

UZZAU, S.; BROWN, D.J.; WALLIS, T.; RUBINO, S.; LEORI, G.; BERNARD, S.; CASADESUS, J.; PLATT, D.J.; OLSEN, J.E. Host adapted serotypes of *Salmonella enterica*. **Epidemiology and Infection**, v. 125, n. 2, p. 229-255, 2000.

VAN DER WOLF, P.J.; WOLBERS, W.B.; ELBERS, A.R.W.; VAN DER HEIJDEN, H.M.J.F.; VAN SCHIE, F.W. Risk factors for *Salmonella* in slaughter-pigs in the Netherlands. In: INTERNATIONAL PIG VETERINARY SOCIETY CONGRESS, 15., 1998, Birmingham, Inglaterra. **Proceedings...** Birmingham , 1998. p. 68.

VAN DER WOLF, P.J.; BONGERS, J.H.; ELBERS, A.R.W.; FRANSSEN, F.M.M.C.; HUNNEMAN, W.A.; VAN EXSEL, A.C.A.; TIELEN, M.J.M. *Salmonella* infections in finishing pig in The Netherlands: bacteriological herd prevalence, serogroup and antibiotic resistance of isolates and risk factors for infections. **Veterinary Microbiology**, v. 67, n. 4, p. 263-275, 1999.

VAN DER WOLF, P. J.; WOLBERS, W. B.; ELBERS, A. R.; VAN DER HEIJDEN, W. H. M. J. F.; KOPPEN, J. M. C. C.; HUNNEMAN, W. A.; VAN SCHIE, F. W.; TIELEN, M. J. M. Herd level husbandry factors associated with the serological *Salmonella* prevalence in finish pig herds in The Netherlands. **Veterinary Microbiology**, v. 78, n. 3, p. 205-219, 2001.

VAN WINSEN, R.L.; VAN NES, A.; KEUZENKAMP, D.; URLINGS, H.A.P.; LIPMAN, L.J.A.; BIESTERVELD, S.; VAN KAPEN, F. Monitoring of transmission of *Salmonella enterica* serovars in pigs using bacteriological and serological detection methods. **Veterinary Microbiology**, v.80, p.267-274, 2001.

VOOGT, N.; RAES, M.; WANNET, W.J.B.; HENKEN, A.M; VAN DE GLESSSEN, A.W. Comparison of selective enrichment media for the detection of *Salmonella* in poultry faeces. **Letters in Applied Microbiology**, V. 32, p. 89-92, 2001.

WATHES, C.M.; ZAIDAN, W.A.R.; PEARSON, G.R.; HINTON, M.; TODD, N. Aerosol infection of calves and mice with *Salmonella typhimurium*. **The Veterinary Record**, v. 123, p. 590-594, 1988.

WEGENER, H.C.; HALD, T.; LO FO WONG, D.; MADSEN, M.; KORSGAARD, H.; BAGER, F.; GERNER-SMIDT, P.; MØLBAK, K. *Salmonella* control programs in Denmark. **Emerging Infectious Diseases**, v. 9, n. 7, p.744-780, 2003.

WINGSTRAND, A. et al. Bovivac-vaccine against experimental clinical *Salmonella* Typhimurium infection in pigs. In: INTERNACIONAL Pig VETERINARY SOCIETY (IPVS), 14., 1996, Bolonha, Itália. **Proceedings**... p. 177.

WOOD, R. L.; POSPISCHIL, A.; ROSE, R. Distribution of persistent *Salmonella* Typhimurium infection in internal organs of swine. **American Journal of Veterinary Research**, v. 50, p. 1015-1021, 1989.

ZEBRAL, A. A. ; FREITAS, C. A.; HOFER, E. Ocorrência de salmonella em gânglios linfáticos de suínos aparentemente normais abatidos no matadouro de Santa Cruz, cidade do Rio de Janeiro. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 62, n. 3 -4 , p. 223-236, 1974.