

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**PRESENÇA E TIPIFICAÇÃO DE *SALMONELLA* spp. NO CONTEÚDO  
RUMINAL DE BOVINOS PÓS-ABATE**

SALÉSIA MARIA PRODÓCIMO MOSCARDI

Botucatu, SP  
FEVEREIRO, 2014

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**PRESENÇA E TIPIFICAÇÃO DE *SALMONELLA* spp. NO CONTEÚDO RUMINAL  
DE BOVINOS PÓS-ABATE**

SALÉSIA MARIA PRODÓCIMO MOSCARDI

Tese apresentada junto ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária para obtenção do título de Doutora em Saúde Animal, Saúde Pública Veterinária e Segurança Alimentar.

**Orientador: Prof. Dr. José Paes de Almeida  
Nogueira Pinto**

## Agradecimentos

A Deus, por mais essa conquista, por estar sempre comigo e por ser a minha fortaleza.

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP – Botucatu-SP, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, pela oportunidade de realizar este trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Prof. Dr. José Paes de Almeida Nogueira Pinto, por me orientar com tamanha amizade, confiança, atenção e apoio em todos os momentos ao longo de tantos anos.

Aos membros da Banca examinadora Andréa Pereira Pinto, Luiz Carlos de Souza, Rogério Salvador e Thais Helena Constantino Patelli por atenderem prontamente meu convite e pela imensa contribuição na correção deste trabalho.

À Superintendência Federal de Agricultura no Paraná em especial aos Fiscais Federais Agropecuários Dra. Maria do Rocio Nascimento, Dr. Luis Gasparetto, Dr. Renato Menon e Dr. Paulo A. Barcellos Franco pela abertura do serviço à realização da pesquisa e aos Agentes de Inspeção Federal Nelson Gonçalves, José Brucinsk, Antonio e Ivonete pelo apoio quando necessário.

Ao Agente de Inspeção Federal e Meteorologista Sergio Felipe Viana do Amaral pelo fornecimento dos dados meteorológicos utilizados nesse trabalho.

À Prof. Dra. Elizabeth Santin e à Técnica de Laboratório Andreia Bueno da Silva do laboratório da Faculdade de Medicina Veterinária da UFPR pela colaboração e valiosa parceria na execução dos trabalhos.

À Técnica de Laboratório Maristela Toledo e à doutoranda Mariana Camargo Lourenço do laboratório da Faculdade de Medicina Veterinária da UFPR, sempre presentes.

Ao colega José Roberto de Lalla Júnior pela amizade, pelo incentivo, imensa atenção e competência oferecidos no decorrer deste trabalho.

Aos funcionários do setor de Pós Graduação da FMVZ – Carlos Pazini e Maria pela atenção e esclarecimentos quando preciso.

À chefe da Divisão de Vigilância Sanitária de Alimentos da Secretaria de Estado da Saúde do Paraná, Karina Ruaro de Paula, por toda amizade, confiança e incentivo na execução deste trabalho.

Ao chefe da Superintendência de Vigilância em Saúde, Sezifredo Paz e ao chefe do Centro de Vigilância Sanitária Paulo Costa Santana - Secretaria de Estado da Saúde do PR - pela atenção e por possibilitarem o desenvolvimento dos trabalhos de pesquisa.

Aos colegas de trabalho da Divisão de Vigilância Sanitária de Alimentos da Secretaria de Estado da Saúde do PR, Noeli Basso, Rose Segal, Pedro P. Pedrosa, Silvio A. Brandt, Eliana Scucato e Alfredo Benato e Mariana Sasso, pelo companheirismo, entusiasmo e apoio ao longo desses anos.

Aos primos Evandro Forte Lorenzetti Casini, Tiago Forte Lorenzetti Casini e Vanessa Nahsan pela ajuda valiosa nas etapas finais dessa tese.

Aos meus irmãos, Sérgio Luiz Prodócimo, Sílvia Ap. Prodócimo Calore e Sílvio José Prodócimo, que mesmo distantes sempre estiveram presentes, torcendo por mim e me apoiando em todos os momentos.

Aos meus cunhados Carlos Roberto Calore, Mônica Regina P. Prodócimo, Rita de Cássia Campana Prodócimo e Sylvia Cristina Moscardi e aos sobrinhos Camila Regina Prodócimo, Carlos Augusto Calore, Felipe M. Beluzzo, Guilherme Luiz Prodócimo, e Thiago César Calore pelo entusiasmo, incentivo e ajuda incondicional.

Aos tios e amigos Vera Forte Casini e José Augusto Lorenzetti Casini pelo carinho e pela infinita dedicação.

Aos sogros Édio Moscardi e Vilma Forte pelo apoio nos momentos difíceis, pela compreensão e pela imensa dedicação para que esse trabalho pudesse ser concluído.

Às amigas Ivany Teixeira de Cais, Andressa Batini Amorim, Letícia Alves, pela força, confiança e ajuda em todos os momentos.

À Auxiliar de Inspeção Susmara Desplanches Paes pelo auxílio na coleta das amostras e pelo companheirismo demonstrado ao longo do experimento.

Aos meus pais Lourdes Sebastian Prodócimo e Lourival Prodócimo pela confiança, ajuda em todos os momentos, orações que tanto me abençoaram e pelo amor incondicional.

Ao meu marido Édio Moscardi Júnior pela presença constante para que eu superasse todos os desafios, pelo entusiasmo ao longo de tantos anos me encorajando a seguir em frente, pela dedicação à tudo que pode nos fazer feliz – todo meu amor, todo meu coração...

Às minhas filhas Júlia Prodócimo Moscardi e Alice Prodócimo Moscardi, por terem ficado por vezes sem companhia para brincar e ainda assim me presentear a cada manhã com o mais lindo sorriso que uma mãe pode desejar – todo meu amor, toda minha vida...

*A Deus por nos brindar a cada dia com uma nova oportunidade de fazer diferente;*

*Ao meu marido Édio Moscardi Júnior por me encorajar a lutar pelos meus sonhos, pela dedicação sincera e pelo amor infinito que ilumina tudo o que fazemos. Sem ele essa pesquisa jamais poderia ter se realizado;*

*Às minhas filhas Júlia e Alice por serem presentes preciosos na minha vida, razão de tudo o que faço;*

*E aos meus pais Lourdes e Lourival que nunca mediram esforços amando, protegendo e abençoando cada um de seus filhos;*

**Dedico**

Nome do Autor: Salésia Maria Prodócimo Moscardi

Título: PRESENÇA E TIPIFICAÇÃO DE *SALMONELLA* spp. NO CONTEÚDO RUMINAL DE BOVINOS PÓS-ABATE

#### COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. José Paes de Almeida Nogueira Pinto  
Presidente e Orientador  
Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública  
FMVZ – UNESP - Botucatu-SP

Prof. Dr. Luiz Carlos de Souza  
Membro  
Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública  
FMVZ – UNESP - Botucatu-SP

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Andréa Pereira Pinto  
Membro  
Departamento de Zootecnia  
UFC – Fortaleza-CE

Prof.Dr. Rogério Salvador  
Membro  
Departamento de Patologia Geral  
UENP – Campus Luiz Meneghel – Bandeirantes-PR

Prof<sup>a</sup>.Dr<sup>a</sup>. Thais Heleno Constantino Patelli  
Membro  
Departamento de Veterinária e Produção Animal  
UENP – Campus Luiz Meneghel – Bandeirantes-PR

**LISTA DE FIGURAS**

<b>Figura 1</b>	Ordenhamento do esôfago para coleta do material ruminal.	36
<b>Figura 2</b>	Coleta do conteúdo ruminal expelido pelo esôfago	36
<b>Figura 3</b>	Prevalência de <i>Salmonella</i> spp. nos lotes avaliados	37
<b>Figura 4</b>	Prevalência de <i>Salmonella</i> spp nos lotes avaliados	40
<b>Figura 5</b>	Número de animais por lote abatido, porcentagem de animais positivos para <i>Salmonella</i> spp. em cada lote avaliado e distância percorrida (Km) dos animais das propriedades até o frigorífico	41
<b>Figura 6</b>	Temperatura média mensal (°C) durante os meses de coleta	42
<b>Figura 7</b>	Temperatura média (°C) durante os dias de coleta	42
<b>Figura 8</b>	Valor médio de pH encontrado durante as coletas	43

## **ABREVIACÕES**

A.G.V: cido Graxo Volátil

APPCC: Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle

ETA: Enfermidade Transmitida por Alimento

EUA: Estados Unidos da América

pH: Potencial Hidrogeniônico

UFPR: Universidade Federal do Paraná

**SUMARIO**

	Página
RESUMO	xi
ABSTRACT	xii
1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 <i>Salmonella</i> spp.	
3. OBJETIVO GERAL	34
3.1 Objetivo Específico	34
4. MATERIAL E MÉTODOS	34
4.1 Planta Frigorífica	34
4.2 Animais	34
4.3 Metodologia de Avaliação	35
4.3.1 Análises microbiológicas	35
4.3.2 Amostragem	35
4.3.2.1 Pesquisa de <i>Salmonella</i> sp.	37
4.3.2.2 Aferição do pH	38
4.3.2.3 Informações dos lotes	38
4.3.2.4 Informações sobre temperatura e umidade relativa	39
5. RESULTADOS	40
6. DISCUSSÃO	44
7. CONCLUSÕES	57

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58
9. TRABALHOS CIENTÍFICOS	68
10. NORMAS PARA PUBLICAÇÃO	85

## RESUMO

PRODÓCIMO-MOSCARDI, S.M. **Presença e tipificação de *Salmonella* spp. no conteúdo ruminal de bovinos pós-abate.** Botucatu-SP, 2014. 54p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

O Brasil lidera o ranking de maior exportador de carne bovina no mundo desde 2008. Garantir a segurança microbiológica desses alimentos tem sido um dos principais focos da indústria processadora de carnes. A aplicação de análises nas diversas etapas do processo industrial tem sido vital para implantar e manter programas de autocontrole como o APPCC. Entre as enfermidades mais frequentes causadas pela ingestão de alimentos contaminados, especialmente os de origem animal, destacam-se as salmoneloses, sendo que sua transmissão se dá primariamente pela via fecal oral. Diante disso, esse trabalho teve como objetivo pesquisar a presença de *Salmonella* spp. em amostras de conteúdo ruminal coletadas durante o abate de bovinos em uma planta frigorífica localizada na região metropolitana de Curitiba - PR. Duzentos e dois animais distribuídos em oito lotes foram avaliados entre os meses de agosto a dezembro de 2013. Ao final do experimento, 37,5% dos lotes mostraram-se positivos para o agente sendo que 2,97% (6/202) das amostras de conteúdo ruminal isolaram o micro-organismo. A totalidade dos animais positivos recebia como alimento apenas pasto de azevém e aveia. Não foi observada a influência de fatores como o estresse do transporte ou temperatura ambiental sobre o isolamento do patógeno. Entretanto a detecção do mesmo sorovar, *Salmonella* Schwarzengrund na totalidade dos isolamentos nos permite levantar a hipótese de que a contaminação dos animais tenha se dado na própria indústria, a partir das estruturas físicas, responsáveis por conter os bovinos ou conduzi-los ao box de insensibilização.

**Palavras chave:** *Salmonella* Schwarzengrund, conteúdo ruminal, *Salmonella* na carne bovina.

## ABSTRACT

PRODÓCIMO-MOSCARDI, S.M. **Presence and characterization of *Salmonella* spp. in ruminal contents of cattle post-slaughter.** Botucatu-SP, 2014. 54p Doctorate Thesis - School of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu campus, São Paulo State University.

Brazil leads the world ranking of bovine meat exportation since 2008. To ensure the microbiological safety of these food products has been one of the primary focuses of the meat processing industry. The application of analyses on diverse stages of the industrial process has been vital for deploy and keeping of self-control programs like APPCC. Beyond the most frequent diseases caused by the ingestion of contaminated food, specially animal origin ones, the salmonellosis stand out being transmitted primarily via fecal-oral route. In light of this, the work had the objective to research the presence of *Salmonella* spp. in rumen fluid samples collected during cattle slaughter at a slaughtering plant localized in Curitiba's metropolitan area. Two hundred animals distributed over eight lots was evaluated between august and december, 2013. At the end of the experiment, 37.5% of the lots were positive for the agent of which 2.97% (6/202) of samples of rumen contents isolated the micro-organism. The total of the positive animals had been feed with ryegrass pastures and oat. Not the influence of factors like transportation stress or environment temperature over pathogen isolation was observed. However, the detection of the same serovar, *Salmonella* Schwarzengrund on overall insulation allow us to raise the hypothesis that all animal contamination have been given inside the industry itself, from the infrastructure responsible of holding the cattle or conducting it to the stunning box.

**Keywords:** *Salmonella* Schwarzengrund, rumen fluid, *Salmonella* on bovine meat.

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil lidera o ranking de maior exportador de carne bovina no mundo desde 2008 e as estatísticas apontam para um crescimento nas exportações de 2,15% para os próximos anos (BRASIL, 2013). Estima-se que a produção brasileira cresça 22,5% entre 2013 e 2023. Projeções ainda mais otimistas preveem um aumento de 42,8% no consumo para o mesmo período. Isso considerando apenas o mercado interno que é responsável pelo consumo de 75% do produto nacional (BEEFPOINT, 2013).

Garantir a segurança microbiológica desses alimentos tem sido o principal foco da indústria processadora de carnes. Com esse objetivo, a aplicação de análises nas diversas etapas do processo industrial tem sido vital para implantar e manter programas de autocontrole como o APPCC – Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle. A participação dos bovinos como reservatórios de agentes patogênicos é bem conhecida. Entretanto, há necessidade de dados mais específicos relacionados à contaminação que pode ocorrer durante as etapas de produção e/ou processamento (BRICHTA-HARHAY et al., 2007).

Registre-se também que são escassas as informações da prevalência de agentes patogênicos específicos nos animais que chegam para o abate. Nos estudos realizados, a pesquisa dos patógenos, especialmente *Salmonella* spp. tem sido feita basicamente nas fezes, a partir de amostras individuais, colhidas diretamente do reto dos animais, ou em amostras de conjunto, colhidas nos caminhões de transporte ou nos currais de espera, antes do abate (JACOB et al., 2009, LENAHAN et al., 2010).

A pesquisa do agente no conteúdo ruminal também tem sido realizada, mas neste caso os dados são muito escassos, embora informações importantes possam ser

obtidas a partir de seu encontro nesse tipo de material, já que ele pode ser indicativo das reais condições de criação dos bovinos, seja ela extensiva ou intensiva (DECLAN et al., 2011).

Assim, no caso de nosso país, principal exportador mundial de carne bovina, tais dados podem auxiliar na composição de uma base de dados sobre a presença de *Salmonella* spp. em bovinos criados sob nossas condições, extensivas ou intensivas e, dessa forma, auxiliar no estabelecimento de estratégias que garantam a qualidade sanitária das carcaças, cortes e produtos derivados aqui produzidos.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 *Salmonella* spp.**

O gênero *Salmonella* é constituído por duas espécies: *Salmonella bongori* e *Salmonella* entérica, esta com seis subespécies. São mais de 2600 sorovares diferenciados por propriedades de aglutinação dos antígenos somáticos O, flagelares H e capsulares Vi. Dentre as espécies e subespécies, *Salmonella* entérica subespécie entérica é a responsável por mais de 99% das infecções em humanos e animais de sangue quente. Nenhum outro patógeno bacteriano pertencente a uma única espécie mostra tamanha habilidade para infectar diferentes hospedeiros e induzir formas variadas de doença como ela (VELGE et al., 2012).

As salmoneloses estão entre as causas mais frequentes de doenças veiculadas por alimentos de origem animal, sendo que a transmissão se dá primariamente pela via fecal oral. A veiculação do agente pode ocorrer através dos alimentos, da manipulação

de objetos ou pelo contato com superfícies ambientais igualmente contaminadas (KHAITSA et al., 2007).

O gênero é responsável por perdas econômicas consideráveis nos plantéis animais e, no homem, é considerado um dos principais agentes etiológicos das enfermidades transmitidas por alimentos – ETA (POPOFF et al., 2002). Sua presença é uma ameaça à saúde do consumidor e um risco para a economia da indústria da carne. Além disso, a detecção de sorovares patogênicos e invasivos de *Salmonella* durante o abate de animais, aparentemente saudáveis, é de importância fundamental, uma vez que os produtos contaminados representam sérios riscos à Saúde Pública (WOLDEMARIAM et al., 2005, KALCHAYANAND et al., 2009).

Mais de 95% das salmoneloses humanas são de origem alimentar e, entre os alimentos envolvidos na transmissão do agente ao homem, os de origem animal possuem um papel de destaque (JACKSON et al., 1991). Esses agentes têm levado enfermidades aos seres humanos através dos animais destinados à alimentação, a despeito do empenho de muitas indústrias na redução de cargas microbiológicas nas carcaças e produtos cárneos (CALLAWAY et al., 2008).

A existência de muitas espécies animais que podem atuar como reservatórios da bactéria, a inespecificidade da grande maioria dos sorovares, o que permite a sua disseminação entre as diversas espécies e os sistemas intensivos de criação cada vez mais empregados no caso de animais de importância econômica, são alguns dos fatores que podem explicar essa participação importante dos alimentos de origem animal na epidemiologia dos surtos de ETA causados por *Salmonella* spp. (D'AOUST et al., 2001).

Ainda que programas de redução de patógenos sobre o processamento dos alimentos estejam sendo bem sucedidos no interior das fábricas, sua eficiência não tem sido capaz de evitar a ocorrência de enfermidades alimentares. Em consequência disso, alguns autores tem conduzido pesquisas buscando estratégias para a redução da carga microbiana nos animais antes mesmo do abate (LENAHAN et al., 2010).

Parece claro que os patógenos alimentares estão disseminados dentro das unidades de criação e atuar nesse ponto é o primeiro passo para se buscar o controle dos perigos a que está exposta a saúde pública (DAVIS et al., 2003, REICKS et al., 2007). É necessário que os animais adentrem as indústrias carregando a menor carga de agentes patogênicos como consequência de um controle sanitário efetuado ainda nas fazendas (CALLAWAY et al., 2011). Só assim os riscos representados por agentes zoonóticos carregados pelos animais abatidos poderão ser minimizados. (AL-SAIGH et al., 2004, KALCHAYANAND et al., 2009).

Vários são os micro-organismos causadores de enfermidades transmitidas por alimentos e sua origem nas unidades de produção animal é bem conhecida. No entanto, muito pouco se sabe sobre a ecologia desses agentes, principalmente no interior de unidades de confinamento (SMITH et al., 1997, BARKOCY-GALLAGHER et al., 2002). Esse manejo com características próprias de reunir animais de várias regiões em um mesmo local e submetê-los a diversos tipos de alimentos, pode abrigar fontes potenciais de contaminação do rebanho (BARHAM et al., 2002, GREEN et al., 2010).

A concentração do gado no ambiente fechado pode facilitar a transmissão fecal oral de bactérias entéricas como *Salmonella* spp. (WOLDEMARIAM et al., 2005). Além disso, práticas de manejo como o reagrupamento de animais visando a

homogeneização dos lotes por peso podem expor animais sadios ao contato com indivíduos infectados fazendo com que a bactéria circule pelo rebanho ao longo de todo o período de confinamento (TABE et al., 2008).

Segundo Griffin et al. (1998) é muito difícil estimar a incidência real de *Salmonella* nos rebanhos confinados, embora relate-se que a porcentagem de animais portadores assintomáticos do agente alcance valores de cerca de 8% nesse tipo de gado. Dados semelhantes foram encontrados por KALCHAYANAND et al. (2009) ao pesquisarem *Salmonella* em amostras de couro de 256 bovinos estabulados no interior dos EUA. A coleta do material, ainda na fazenda, apresentou uma prevalência de 7% para *Samonella* spp.

Tabe et al. (2008) pesquisaram *Salmonella* nas fezes retais de 138 novilhos naturalmente infectados na Dakota do Norte – EUA. Um total de 458 amostras foi analisado revelando uma prevalência de 12,7% do agente. Levantamentos anteriores, realizados também nos Estados Unidos, no entanto, apontaram para valores bem mais elevados. Beach et al. (2002b) por exemplo, ao pesquisarem o patógeno em bovinos confinados encontraram uma prevalência de 22,3%, sendo que no gado criado extensivamente ela foi ainda maior, 31,4%. Esses dados mostram claramente que no tocante à contaminação, também não deve ser subestimada a importância assumida por animais criados a pasto.

A escolha da unidade amostral a ser trabalhada na pesquisa de salmonelas em bovinos pode ser decisiva no levantamento da prevalência do patógeno. Isso talvez explique a discrepância existente entre os valores encontrados por esses autores.

Como exemplo, citamos a pesquisa de Stephens et al. (2007) que ao trabalharem com 50 bovinos confinados na Universidade do Texas – EUA coletaram *swabs* de seis diferentes pontos do couro dos animais além de amostras da cavidade oral, e fezes diretamente do reto identificando o patógeno em 100% dos animais pesquisados. Para os autores, se a coleta de amostras tivesse sido limitada a apenas um local, certamente a prevalência de *Salmonella* no lote teria sido subestimada. Kalchayanand et al. (2009) pesquisaram o agente em diferentes pontos do couro de bovinos abatidos nos EUA imediatamente após a sangria. Uma análise de seus dados permite concluir que a coleta de amostras apenas da área do lombo dos animais teria restringido os isolamentos a 39,5% e seria desconsiderada a positividade encontrada de 68,2% das amostras recolhidas da área ventral dos animais.

É importante ressaltar a participação de outras espécies domésticas na disseminação dessa bactéria aos bovinos. Pequenos ruminantes confinados destinados à produção de carnes, por exemplo, têm sido identificados como portadores saudáveis desse agente. Woldemariam et al. (2005) pesquisaram a presença de *Salmonella* em amostras de fezes retais, fígado, baço, músculos abdominais e linfonodos mesentéricos de 47 ovinos e 60 caprinos na Etiópia. O agente foi isolado em 5,1% das amostras analisadas (33/642). Os rebanhos estudados mostraram prevalências de 9,3% para os caprinos e 2,8% para os ovinos. Logo, deve ser considerado que, ao se criar em consórcio, bovinos e outros animais domésticos portadores de *Salmonella*, fato que também pode ser observado no Brasil, é grande a possibilidade dessas espécies assim criadas compartilharem e disseminarem entre si o mesmo agente patogênico.

Do mesmo modo, o período de convívio entre animais sadios e portadores deve ser observado. Alguns autores têm relatado a participação crescente de indivíduos infectados na disseminação de *Salmonella* a outros integrantes do rebanho.

Khaita et al. (2007) pesquisaram *Salmonella* spp. em novilhos confinados durante sete meses na Dakota do Norte, EUA. A positividade das amostras foi crescente e diretamente proporcional ao tempo de permanência dos animais nas baias, variando inicialmente de 0,7% até 62% ao final do experimento. Esses dados concordam com aqueles publicados por Fedorka-Cray et al. (1998) ao observarem que os bovinos confinados por um período menor de tempo apresentaram menor porcentagem de amostras de fezes positivas, 3,5% (88/2482), enquanto que para animais estabulados por períodos maiores, ela foi de 7,4% (185/2495), diferença essa significativa ( $p < 0,05$ ).

Os dados de Table et al. (2008) reafirmam essa influência positiva exercida pelo tempo de contato entre os animais durante o isolamento de *Salmonella*. Ao acompanharem um grupo de 72 bovinos confinados durante a fase de terminação, por 42 dias, os autores observaram que inicialmente 8,3% deles já eram portadores do patógeno. Ao final do experimento 12% dos animais sadios tornaram-se positivos elevando a prevalência para 20,3%.

Os relatos desses autores contrastam com aqueles obtidos anteriormente por Frost et al. (1988) que identificaram um decréscimo no número de amostras positivas para *Salmonella* spp. no gado estabulado por períodos maiores que 80 dias. Para Fedorka-Cray et al. (1998) essa diferença pode ser atribuída aos diferentes sorovares

encontrados nos dois estudos, já que dos 14 identificados por Frost et al. (1988) somente 3 eram comuns a ambas as pesquisas.

Como é possível observar, existe grande diferença entre as prevalências relatadas na literatura consultada. Vários fatores podem ter contribuído nesse sentido. Dentre eles, há que se considerar o plano amostral escolhido, o tipo de amostra coletada, a metodologia de isolamento e a própria distribuição das *salmonelas* dentro dos rebanhos (Woldemariam et al., 2005).

Os animais infectados podem apresentar comportamentos diferentes na disseminação do agente patogênico. Enquanto alguns bovinos portadores podem vir a eliminar com frequência *Salmonella* através de suas fezes, outros o fazem de modo intermitente. Khaita et al. (2007) observaram que dentre os 143 novilhos que completaram seu experimento durante as quatro coletas realizadas, em 84 deles o agente foi isolado ao menos uma vez, enquanto 32 animais o fizeram por duas vezes. Dentre os animais infectados, apenas um mostrou-se positivo em três coletas. Em nenhum animal o patógeno foi isolado nas quatro coletas realizadas, mas um deles manteve-se eliminando *Salmonella* do início ao fim da pesquisa. Os dados desses autores ressaltam a importância de se monitorar individualmente os bovinos a fim de que possam ser identificados portadores assintomáticos. Desta forma, a segregação desses indivíduos poderia evitar que os mesmos atuassem como fontes de contaminação para o restante do grupo. No entanto, este procedimento é muito difícil do ponto de vista prático.

O isolamento de diversos sorovares nas várias pesquisas realizadas, bem como a participação dos mesmos como possíveis agentes etiológicos das salmoneloses em humanos, têm sido outro importante ponto de discussão nos trabalhos publicados.

No levantamento realizado por Fedorka-Cray et al. (1998) 26 diferentes sorovares foram identificados, sendo os mais comuns: *S. Anatum* (27,9%), *S. Montevideo* (12,9%), *S. Muenster* (11,8%), *S. Kentucky* (8,2%) e *S. Newington* (4,3%). Segundo os autores, dos 10 sorovares mais comumente associados com a doença em humanos, somente um, *S. Typhimurium*, estava entre os 10 principais sorovares presente nas fezes dos bovinos nas unidades de confinamento.

Para os autores, tais dados não devem ser tomados como indicativos de que os bovinos não são importantes na disseminação do agente ao homem. Ao contrário, para Fedorka-Cray et al. (1998) é de suma importância a continuidade do monitoramento dos diversos sorovares nas criações animais, já que os mesmos podem vir a emergir como patógenos potenciais ao homem. É o caso, por exemplo, de *Salmonella* Enteritidis, sorovar pouco implicado em doenças em animais e no homem no passado, mas que a partir da segunda metade da década de oitenta, passou a ser o principal agente das salmoneloses humanas em vários países do mundo, inclusive o Brasil (TAVECHIO et al., 1996, D'AOUST et al., 2001).

Dargatz et al. (2000) ao analisarem fezes de conjunto de gado confinado, relataram uma maior prevalência de sorovares do Grupo C1 (33,3%) como *Salmonella* Mbandaka e *Salmonella* Montevideo. Segundo os autores, é possível que esse sorogrupo esteja tornando-se melhor adaptado à espécie bovina ou que suas fontes de contaminação se apresentem com maior frequência nos sistemas de confinamento.

Beach et al. (2002b) trabalhando com rebanhos confinados e rebanhos criados de forma extensiva, ambos aparentemente saudáveis, encontraram esses mesmos sorovares contaminando fezes, couro bovino, alimentos e o ambiente de criação dos animais. Destacaram também o isolamento de dois sorovares em gado confinado e quatro na criação extensiva, ambos despontando entre os dez mais implicados em surtos alimentares humanos. Esses dados reforçam a preocupação expressa por Fedorka-Cray et al. (1998) já que demonstram a possibilidade de uma estreita relação entre o consumo de carne bovina e a contaminação por *Salmonella* spp. no homem.

De acordo com Poppe et al. (1998) o isolamento de *Salmonella* Typhimurium DT 104, a partir de animais e humanos com quadro clínico de salmonelose tem aumentado muito nos últimos anos em vários países como Inglaterra, Estados Unidos e Canadá. Tabe et al. (2008) encontraram *Salmonella* Typhimurim var. Copenhagen em 53 dos 58 isolamentos realizados sobre bovinos nos EUA.

Ainda nos EUA, o mesmo sorovar foi identificado na totalidade das 89 amostras positivas pesquisadas por Khaitza et al. (2007) em bovinos estabulados. Para esses autores isso não foi uma surpresa, pois os bovinos são comumente fontes de *Salmonella* Typhimurium. Entretanto, o sorovar encontrado em seu trabalho mostrou ser resistente a antibióticos de uso comum a humanos e animais, demonstrando a necessidade de maior preocupação com esse patógeno, haja vista sua potencial capacidade de impactar a saúde das duas espécies.

O trabalho de Woldemariam et al. (2005) identificou 9 sorovares totalizando 33 cepas de *Salmonella*. O sorovar mais frequentemente isolado foi *Salmonella* Infantis (45,5%) seguido por *Salmonella* Butantan (24,2%), *Salmonella* Braenderup e

*Salmonella* Kingabwa, ambas com 6,1%. Outros sorovares identificados foram *Salmonella* Hadar, *Salmonella* Zanzibar, *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Kottbus e *Salmonella* Anatum (3,0% cada). Para esses autores a detecção de sorovares patogênicos e invasivos como *Salmonella* Infantis e *Salmonella* Typhimurium em pequenos ruminantes, aparentemente saudáveis e destinados à alimentação humana, servem de alerta à Saúde Pública, pois suas carnes e derivados podem estar contaminados. Os dados desses pesquisadores chamam a atenção para o isolamento de dois sorovares que, até então, eram inéditos na Etiópia - *Salmonella* Kingabwa e *Salmonella* Zanzibar.

Como observado, o isolamento de *Salmonella* spp. das fezes de animais tem sido documentado por vários autores. Ressalta-se com isso, a importância em se monitorar animais clinicamente sadios, criados a pasto ou terminados em confinamentos, para que sorovares emergentes e fontes diversas de contaminação possam ser identificadas e controladas. É evidente a necessidade de maior atenção para as contaminações cruzadas nas linhas frigoríficas (McEVOY et al., 2003, WOLDEMARIAM et al., 2005).

A influência da época do ano sobre a prevalência do patógeno nos rebanhos também tem sido objeto de vários estudos. De modo geral, os autores têm observado uma maior prevalência do agente durante os meses quentes do ano ou ainda, naquelas regiões mais quentes durante uma mesma estação (FEDORKA – CRAY et al., 1998, LOSINGER et al., 1997, PUYALTO et al., 1997, DONKERSGOED et al., 1999, DARGATZ et al., 2000, BACON et al., 2002, BARKOCY-GALLAGHER et al., 2003,

McEVOY et al., 2003, MOSCARDI -JR et al., 2003 a, 2003 b, 2005, RIVERA-BETANCOURT et al., 2004).

Khaita et al. (2007) destacaram em seu trabalho a interferência favorável das alterações climáticas na disseminação de *Salmonella*. Para os autores as temperaturas baixas mantêm a viabilidade do patógeno nas fezes permitindo que novas infecções ocorram com a chegada de estações mais quentes. Além disso, esses pesquisadores observaram que na primavera as baias mostravam-se enlameadas como consequência do degelo do inverno anterior. Isso teria favorecido a disseminação de células viáveis de *Salmonella* entre os animais do experimento, uma vez que dentre eles havia um bovino eliminando o patógeno através das fezes.

No levantamento de Cummings et al. (2010) os autores estudaram a prevalência de *Salmonella* em amostras de gado de leite e no ambiente. Os dados revelaram que a prevalência do patógeno em ambos os tipos de amostras variava a cada estação e aumentava conforme a temperatura se elevava.

Declan et al. (2011) inocularam cepas de *Salmonella* em amostras de fezes incubadas a 6° C e a 15°C em condições iguais de pH. Durante o período de incubação os autores acompanharam a viabilidade das células inoculadas. Após sete dias, foi possível identificar maior número de bactérias nas amostras incubadas a 15 ° C. Para os autores a sazonalidade pode ter interferência direta sobre o micro-organismo nas fezes.

A alimentação oferecida aos animais é outro ponto estudado como possível fonte de contaminação por *Salmonella* spp. Vários autores têm sugerido que a dieta pode ser usada para manipular a composição dos ácidos graxos voláteis – AGV e o pH do

rúmen. Entretanto os relatos são conflitantes sobre qual seria o alimento ideal capaz de reduzir a eliminação de agentes patogênicos nas fezes (DECLAN et al., 2011).

Beach et al. (2002a, 2002b) citam que a dieta a que são submetidos os bovinos estabulados (altamente proteica e energética), em consequência da produção de grandes quantidades de AGV, poderia tornar o rúmen desses animais menos favorável ao desenvolvimento de *Salmonella* spp. devido a variações de pH intra-ruminal, fato que ocorreria em menor escala na criação a pasto. Do mesmo modo, a ausência de ingesta pela privação de alimentos não forneceria ao rúmen os substratos para a produção de AGV resultando em menor acidez ruminal beneficiando a recuperação das células do patógeno em seu conteúdo (Mc-EVOY et al., 2003).

Dados contrastantes foram encontrados por Declan et al. (2011) ao analisarem amostras de fezes e líquido ruminal de 5 vacas com fístulas ruminais submetidas a 5 diferentes dietas. Durante o experimento as amostras foram artificialmente inoculadas com cepas de *Salmonellas* objetivando estudar o papel do pH e das concentrações de AGV na sobrevivência dos agentes. Segundo os autores, tanto pH como AGV não influenciaram na recuperação das cepas inoculadas sobre o líquido ruminal que foi baixa. O mesmo não ocorreu com amostras inoculadas em fezes, que se mostraram favoráveis ao crescimento e sobrevivência da bactéria.

Esse trabalho sugere que as condições do ambiente ruminal para o desenvolvimento de *Salmonella* independem da dieta bovina, podendo ainda haver uma adaptação das cepas favorecendo sua sobrevivência quando no ambiente abomasal, com uma consequente recuperação melhor nas fezes. Entretanto, o experimento de Declan et al. (2011) se deu *in vitro*. Em condições naturais, talvez, os achados fossem

diferentes. De qualquer forma, estes autores ressaltam ainda a necessidade de práticas de gestão de resíduos agrícolas que possam restringir a disseminação dos agentes no ambiente.

Diante dessa preocupação, alguns pesquisadores têm focado seus trabalhos na busca de propriedades antibióticas naturalmente presentes em alguns alimentos. A diminuição da microbiota patogênica através de derivados cítricos, por exemplo, é um conceito simples, que provavelmente seria visto pelo consumidor como uma “solução verde” para aumentar a segurança de alguns alimentos (CALLAWAY et al., 2008). Esses subprodutos da indústria da laranja vêm sendo empregados na alimentação de rebanhos devido ao baixo custo de sua aquisição e alto nível nutricional. Dentre suas propriedades a atividade antimicrobiana dos óleos cítricos tem chamado a atenção (LENAHAN et al., 2010, CALLAWAY et al., 2011).

No experimento de Callaway et al. (2011) três grupos de ovelhas foram alimentados com diferentes dietas contendo 0, 10 e 20% de derivados cítricos durante 7 dias. Posteriormente esses animais foram inoculados com *Salmonella* Typhimurium. Suas fezes foram coletadas 24 h pós-inoculação, seguindo-se o abate – 96 h pós-inoculação - e coleta de conteúdo e tecido ruminal, cecal e do reto, que foram submetidos à análise. Os dados revelaram que os animais que receberam 10% de derivados cítricos em sua ração apresentaram menor isolamento do agente comparado àqueles que não foram alimentados com polpa cítrica ou que receberam 20%. Para esses últimos o excesso de polpa cítrica na dieta reduziu sua palatabilidade e consequente ingestão, interferindo negativamente nas propriedades bactericidas dos óleos cítricos. Esses pesquisadores sugerem que a utilização de produtos cítricos na

dieta animal em períodos que antecedem o carregamento e abate dos animais pode ser uma estratégia a ser usada na redução de *Salmonella* nos animais destinados a alimentação humana.

Do mesmo modo, o isolamento de *Salmonella* spp. em amostras de alimentos antes do seu fornecimento aos animais é um indicativo do risco a que esse grupo está sujeito, uma vez que as quantidades amostradas são ínfimas quando comparadas aos grandes silos em que se encontram estocados (DAVIS et al., 2003). A verificação da qualidade higiênico-sanitária da ração animal é medida de controle na veiculação de patógenos, já que ela se constitui em parte integrante da cadeia alimentar, estendendo-se do sistema de produção até o consumidor (DOS SANTOS et al., 2000).

Durand et al. (1990) identificaram *Salmonella* spp. em farinhas de origem animal (carne, ossos, carcaças, peixes e sangue) em porcentagens que variaram de 6,85% a 14,62%. Fato semelhante foi observado no trabalho de Losinger et al. (1997) que verificaram uma associação estatisticamente significativa entre o isolamento de *Salmonella* spp. nas fezes e o tipo de alimento oferecido aos animais no período de sete dias antes da colheita de amostras para análise ( $p < 0,05$ ). Caroço de algodão, casca de algodão e sebo bovino foram os alimentos implicados (LOSINGER et al., 1997).

Moscardi-Jr. et al. (2003a, 2003b), trabalhando com animais confinados no interior de São Paulo, identificaram *Salmonella* spp. no caroço de algodão que era servido aos bovinos e também em amostras de fezes e carcaças desses animais abatidos, vindo posteriormente em 2004, a recuperar o agente em outro constituinte da ração, o núcleo mineral proteico (dados não publicados). Após a sorotipagem das

cepas isoladas, Moscardi-Jr et al. (2005) verificaram a presença do mesmo sorovar *Salmonella* Tennessee nas amostras de caroço de algodão, fezes e carcaças, indicando uma possível correlação entre o isolamento da bactéria no alimento e sua recuperação nas fezes e carcaças dos animais.

Tais resultados reforçam a importante participação que a alimentação, seja ela de origem animal ou vegetal, possui como fonte de infecção para os rebanhos, como já demonstrado em trabalhos anteriores (BERCHIERI et al., 1984, DURAND et al., 1990). Importância ainda maior assumem aqueles patógenos que requerem um número pequeno de células para desencadear infecção e estão sendo isolados de quantidades pouco representativas de determinadas amostras de alimentos (DAVIS et al., 2003).

Cabe salientar que a inoculação oral de *Salmonella* Typhimurium em gado confinado mostrou que a disseminação do agente ocorre de maneira rápida no rebanho e que parte dos animais permaneceu excretando-o pelas fezes por até 71 dias após o início do experimento (CLINTON et al., 1981). Esses dados concordam com aqueles encontrados por Tabe et al. (2008) que observaram um aumento na prevalência de *Salmonella* no rebanho ao longo de 42 dias de experimento. Esses autores encontraram positividade em 8,3% dos bovinos analisados no início do experimento. Ao final do período de estabulação estes valores atingiram 20,3% sendo que em 53 das 58 positivas isolou-se *Salmonella* Typhimurium.

A participação de animais que atuam como vetores na disseminação do agente em ambientes de criação também é outro fator importante a ser considerado. Na cadeia produtiva de frangos de corte, por exemplo, Jones et al. (1991) pesquisaram o agente

em insetos e roedores capturados em diferentes locais, isto é, avozeiros, incubatórios, galpões de criação, tendo isolado *Salmonella* spp. em 13% dos insetos e 5,3% dos roedores. Dados semelhantes foram citados por Letellier et al. (1999) que verificaram a presença do patógeno em instalações de suínos no Canadá. Em relação a instalações destinadas a bovinos de corte, não dispomos de tais dados, mas as condições que propiciam o aparecimento de tais animais no caso das aves e suínos são muito semelhantes às encontradas para os bovinos.

Outro ponto relevante relacionado à contaminação dos lotes de animais por *Salmonella* refere-se ao estresse sofrido pelos mesmos durante o transporte em caminhões no trajeto das fazendas de criação até o frigorífico. Vários autores têm observado um aumento da eliminação do patógeno através das fezes, por portadores assintomáticos, contribuindo para a contaminação do couro dos demais indivíduos do lote (PUYALTO et al., 1997, BACON et al., 2002, BARHAM et al., 2002, BEACH et al., 2002 a , SORENSEN et al., 2002, REICKS et al., 2007).

São muitas as características de transporte e estabulação que podem influenciar na presença de *Salmonella* no couro do gado de corte, mas o contato direto entre bovinos sadios e infectados, sob condições estressantes, merece destaque. O próprio estado de agitação em que se encontram os animais pode auxiliar na disseminação das bactérias pelo ambiente (WOLDEMARIAM et al., 2005, DEWELL et al., 2008).

Como estratégia de prevenção contra esses riscos microbiológicos, tem se praticado o jejum de sólidos pré-abate a fim de que mesmo havendo eventuais acidentes dentro da sala de matança durante a evisceração dos animais, a

contaminação seja a menor possível. Entretanto, Pointon et al. (2012) pesquisaram o efeito dessa prática sobre a contaminação fecal quando esta era realizada antes mesmo do transporte dos animais até o frigorífico. Os dados encontrados são contrastantes. Se por um lado a privação de alimentos reduz a defecação animal e a presença de sujidades sobre o couro favorecendo a esfolação higiênica, por outro, a ausência de alimento no rúmen diminui a produção de AGV elevando o pH e propiciando o desenvolvimento de bactérias entéricas como *Salmonella*. Para esses autores o intervalo entre 24 e 48 h de jejum pré-transporte seria o ideal para compensar as duas situações e reduzir a contaminação sobre o couro

Para Reicks et al. (2007) a poeira e sujidades encontradas em pontos de contenção, carregamento ou manejo de bovinos, tanto nas áreas de criação como nos frigoríficos, devem ser consideradas também fontes de contaminação para o couro dos animais, podendo resultar em contaminação cruzada durante a insensibilização e sangria. Assim, manter a higiene de abate é de fundamental importância uma vez que a disseminação fecal de patógenos de caráter zoonótico pelos animais está fortemente correlacionada com os riscos de contaminação das carcaças (Al-SAIGH et al., 2004).

Em acordo com esses autores, Rivera-Betancourt et al. (2004) citam que a superfície de cobertura muscular dos animais abatidos é naturalmente estéril e pode tornar-se contaminada através do contato com o couro durante sua remoção. Logo existe um risco microbiológico real como evidenciado por Barkocy-Gallagher et al. (2003) que ao analisarem amostras de couro, fezes e carcaças, encontraram uma positividade de 71,0% para *Salmonella* spp. em 1066 amostras de couro pré-abate, havendo maior correlação entre o couro e as carcaças contaminadas em comparação

ao couro e amostras de fezes positivas. Esses mesmos autores ressaltam a participação do couro bovino como fonte principal de disseminação de patógenos para a carcaça no momento da esfolagem.

Diante desses dados, é possível observar que a etapa da esfolagem é uma das principais fontes de contaminação cruzada para carcaças no interior de plantas frigoríficas (DONKERSGOED et al., 1999, REID et al., 2002, McEVOY et al., 2003). Determinar a prevalência de *Salmonella* spp na superfície do couro antes da entrada dos animais nos estabelecimentos frigoríficos serviria como indicativo da potencial contaminação a que as demais carcaças, já esfoladas, estariam sujeitas (Bacon et al., 2002).

Como observado, várias são as fontes e os fatores que podem levar à contaminação dos bovinos de corte por *Salmonella* e, posteriormente, de suas carcaças durante a obtenção da carne bovina. Neste sentido, medidas devem ser tomadas em todos os elos da cadeia de produção da carne para que o produto chegue ao mercado consumidor livre desse importante patógeno. Além disso, a possibilidade de transmissão de *Salmonella* spp. através da cadeia alimentar não pode ser desconsiderada especialmente em carnes cruas, defumadas ou levemente cozidas e subprodutos cárneos (MEYER et al., 2010).

A literatura consultada mostra que a rota mais comum para a contaminação de carcaças e ambientes tem como via principal a eliminação das bactérias através das fezes. Acrescenta ainda que o rúmen é um reservatório de patógenos potenciais recolonizadores do trato intestinal. Diante disso, se as populações de *Salmonella*

pudessem ser reduzidas ainda em seu interior, isso aumentaria as chances de sucesso das medidas aplicadas para o controle desse agente (CALAWAY et al., 2008).

Com base nessas informações, alguns autores têm estudado o perfil microbiológico e físico-químico do conteúdo ruminal e o seu papel na disseminação de *Salmonella*. Os dados levam a concluir que os alimentos podem ser usados para manipular a composição de AGV e pH ruminais e conseqüentemente interferir na sobrevivência desses micro-organismos. Contudo não é possível identificar um consenso entre os trabalhos consultados sobre qual seria a dieta ideal capaz de reduzir a eliminação fecal de patógenos (MATTILA et al., 1988, Mc-EVOY et al., 2003, LENAHAN et al., 2010, DECLAN et al., 2011, CALLAWAY et al., 2008/2011, Pointon et al., 2012).

Em nosso país, no entanto, apesar de ser ele atualmente o principal produtor mundial de carne bovina, ainda são escassos os dados relativos à prevalência de *Salmonella* spp nesse produto. No caso do gado confinado, dados resultantes do projeto de pesquisa desenvolvido por Moscardi Jr. et al. (2005), financiado pela FAPESP (Proc. nº 02/11146-1), indicaram uma prevalência de 6,66% dentre os 60 animais analisados e 1,24% dentre as 322 amostras de fezes obtidas desses animais, todos estabulados por um período médio de 6 meses.

O trabalho desenvolvido por esses autores foi realizado em uma unidade de confinamento experimental, sob condições ideais de manejo e sanidade dos lotes estabulados. Nesse sentido, torna-se importante realizar estudos adicionais que contemplem rebanhos criados sob condições naturais, confinados ou a pasto, haja vista que no Brasil poucas são as informações sobre a prevalência de *Salmonella* spp. em

bovinos, tanto aqueles criados extensivamente como os submetidos a regimes de confinamento.

Torna-se interessante ainda que a pesquisa do patógeno se dê no conteúdo ruminal, pois nos trabalhos realizados em nosso país onde se procurou detectar *Salmonella* nos animais destinados ao abate, a pesquisa do agente se deu nas fezes e no couro. Os dados obtidos no presente trabalho poderão contribuir para um melhor entendimento do papel desse agente na criação dos bovinos sob nossas condições, haja vista a importância do Brasil no mercado produtor de carne bovina.

### **3. OBJETIVO GERAL**

Pesquisar a presença de *Salmonella* spp. em bovinos abatidos no estado do Paraná.

#### **3.1 OBJETIVO ESPECÍFICO**

Pesquisar e, quando presentes, identificar quanto ao sorovar as cepas de *Salmonella* detectadas no conteúdo ruminal de bovinos;

Discutir eventuais fatores associados à detecção do patógeno nas amostras avaliadas.

### **4. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **4.1 Planta frigorífica**

A indústria em que as amostras foram coletadas localizava-se na região metropolitana de Curitiba – PR e realizava o abate diário de 500 bovinos, em média. A planta e os animais ficavam sob a responsabilidade do Serviço de Inspeção Federal (SIF).

#### **4.2 Animais**

Os bovinos eram adquiridos de propriedades dentro do estado do Paraná e transportados até a planta frigorífica por caminhões boiadeiros com capacidade para 20 animais cada. Ao chegarem ao frigorífico eram alojados em currais para realização do descanso, dieta hídrica e jejum precedendo-se a seguir ao abate.

Durante o processo de matança os lotes eram aleatoriamente escolhidos para coleta de amostras anotando-se a identificação de cada bovino para posterior levantamento de informações sobre os animais.

### **4.3 Metodologia de Avaliação**

Para a realização das análises microbiológicas foram utilizados 202 animais, não tendo sido levado em consideração os parâmetros raça, idade ou sexo.

#### **4.3.1 Análises microbiológicas**

Foram realizadas quatro coletas entre os meses de agosto e dezembro de 2013. Um dia por mês eram recolhidos da linha de abate 50 amostras de conteúdo ruminal. Em apenas uma das visitas ao frigorífico foram coletadas 52 amostras.

#### **4.3.2 Amostragem**

Porções do conteúdo ruminal eram recolhidas do rumem de cada bovino imediatamente após sua despança durante o abate. Com o auxílio de dois colaboradores com mãos enluvasadas, realizava-se a ordenha do órgão até que o mesmo expelisse conteúdo pela abertura esofágica (Figura 1). Esse material era recolhido em coletores universais estéreis com capacidade média de 80 mL cada (Figuras 2 e 3), sendo identificados com a posição dos animais na escala de abate e armazenados sob refrigeração em caixa isotérmica.



**Figura 1:** Ordenhamento do esôfago para coleta do material ruminal



**Figura 2:** Coleta do conteúdo ruminal expelido pelo esôfago



**Figura 3:** Coletor universal para coleta de aproximadamente 80mL de amostra

Ao final dos trabalhos diários as amostras eram transportadas até o laboratório da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Paraná onde ocorria a aferição do pH e realização das análises microbiológicas.

#### **4.3.2.1 Pesquisa de *Salmonella* sp.**

Foi utilizada a metodologia preconizada por ANDREWS et al. (1998). As amostras de conteúdo ruminal (25 mL), foram transferidas para frascos contendo 225 mL de água peptonada tamponada 1%, e incubadas a 35°C por 24h (etapa de pré-enriquecimento).

O enriquecimento seletivo foi realizado utilizando-se 2 caldos: Rappaport-Vassiliadis (RV) e Tetracionato (TT). Das amostras pré-enriquecidas, foram

transferidos 0,1 mL e 1 mL para tubos contendo 10 mL de RV e TT respectivamente.

A seguir, partindo de cada um dos caldos de enriquecimento seletivo, procedeu-se a semeadura em placas de ágar seletivo para *Salmonella*: ágar BS (Sulfito de Bismuto) e ágar XLD (Xilose Lisina Desoxicolato), que foram incubadas a 35°C por 24h. Três a cinco colônias suspeitas de cada placa foram repicadas para tubos contendo Tríplice Açúcar Ferro (TSI) e Lisina Ferro Agar (LIA), que foram incubados a 35°C por 24h. A partir dos tubos que apresentaram reação característica para *Salmonella*, foi realizada a prova de soroprecipitação em lâmina, empregando-se anti-soro polivalente flagelar e somático (Probac, São Paulo). Amostras positivas nesse teste foram caracterizadas bioquimicamente através do sistema API 20E (BioMerieux, França).

As cepas caracterizadas como *Salmonella* sp. foram enviadas à FIOCRUZ no Rio de Janeiro para sorotipagem.

#### **4.3.2.2 Aferição do pH (potencial hidrogeniônico)**

A aferição do pH das amostras ocorreu imediatamente após retirada da alíquota destinada ao pré-enriquecimento. A técnica utilizada foi de acordo com as normas de utilização do fabricante do pHmetro - LABMOR.

#### **4.3.2.3 Informações dos lotes:**

De acordo com a Padronização de Técnicas, Instalações e Equipamentos para a inspeção de carnes em bovinos as carcaças eram identificadas com carimbo

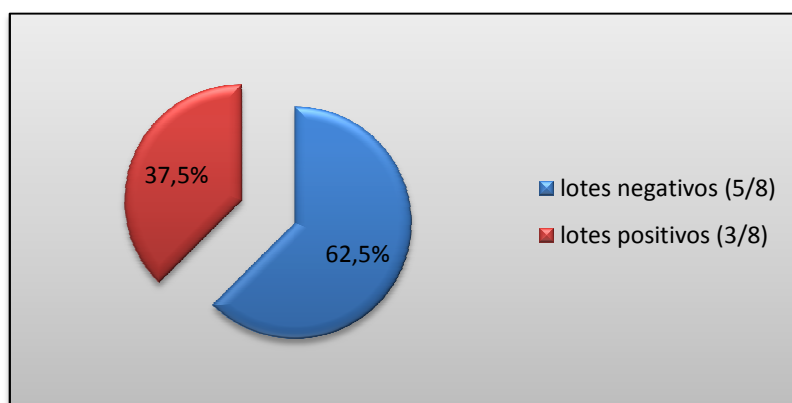
no peito e na pleura trazendo o número do bovino abatido, seu respectivo lote e a data do abate. Através desses dados e das informações presentes nas Guias de Trânsito Animal era possível identificar a origem dos bovinos e sua propriedade. Era então realizado contato telefônico com o proprietário dos animais onde se obtinham detalhes a respeito do manejo de criação e da dieta fornecida aos lotes.

#### **4.3.2.4 Informações sobre temperatura e umidade relativa**

Esses dados foram obtidos através de consulta on line ao *site* [www.weatherundergroud.com](http://www.weatherundergroud.com) acessado em 07/01/2014.

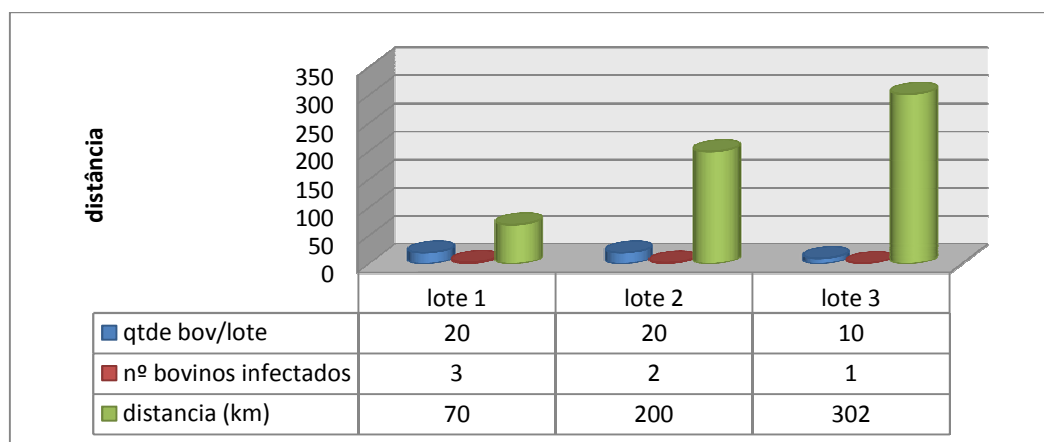
## 5. RESULTADOS:

Ao final dos trabalhos foram analisadas 202 amostras de conteúdo ruminal, sendo que em seis delas (2,97%) isolou-se *Salmonella* spp. Dentre os oito lotes investigados, três deles (37,5%) mostraram-se positivos para o patógeno, todos no mesmo dia de coleta e no mês de outubro (Figura 4). O primeiro lote positivo era composto por 20 animais, dos quais três (15%) foram positivos. No segundo lote, também com 20 bovinos, o agente pôde ser isolado em dois deles (10%) enquanto que no terceiro, com 10 animais, em apenas um animal isolou-se *Salmonella* spp. (10%). Todas as cepas foram identificadas como *Salmonella*. Schwarzengrund.



**Figura 4:** Prevalência de *Salmonella* spp nos lotes avaliados

As distâncias entre as propriedades e o frigorífico variaram de 70 km a 468 km sendo que os bovinos positivos ficaram assim distribuídos: três isolamentos para a propriedade mais próxima (70 km) dois isolamentos para 200 km e um para 302 km (Figura 5).



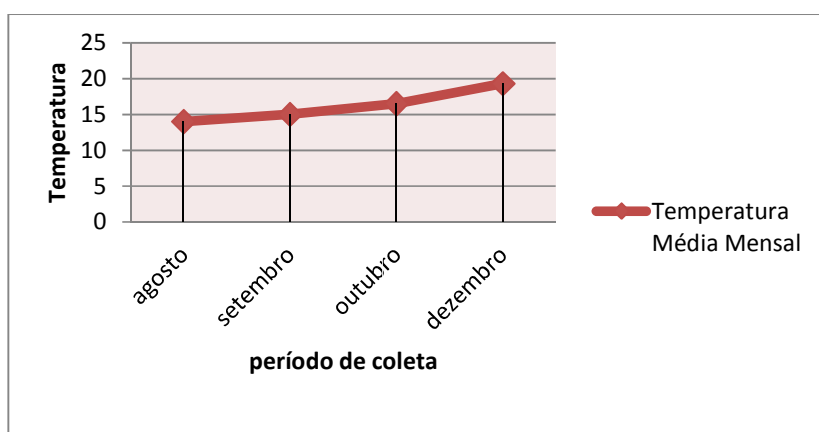
**Figura 5:** Quantidade de animais por lote abatido, número de animais infectados por *Salmonella* spp. em cada lote avaliado e distância percorrida (Km) entre as propriedades e o frigorífico

Quanto à alimentação fornecida aos animais, das oito propriedades avaliadas, duas delas faziam recria em pastagens de azevém e aveia e confinavam os animais em média por 90 dias (silagem de milho planta + ração peletizada). Três outras retiravam os animais de pastagens de *Brachiaria brizanta* e finalizavam a engorda por confinamento em média por 75 dias (silagem de cevada + milho moído + trigoilho + farelo de soja e núcleo mineral). As três outras restantes concluíam a recria e engorda em pastagens consorciadas de azevem com aveia fornecendo sal mineral livremente no cocho. Nestes três últimos lotes foram detectadas as amostras positivas para *Salmonella*.

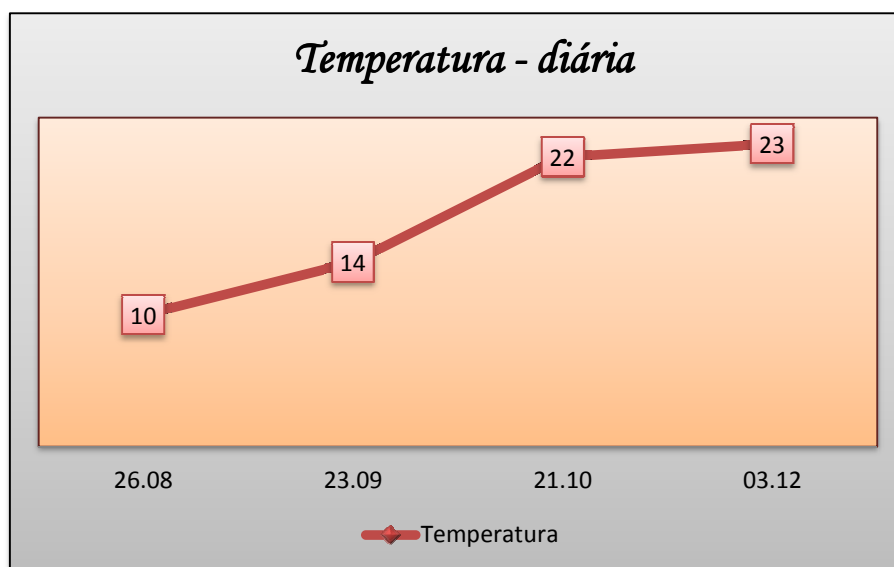
Durante os dias de coleta a temperatura ( $T^{\circ}$ ) e umidade relativa (UR) do ar apresentaram as seguintes características (Figuras 6 e 7):

- coleta em 26 agosto de 2013:  $T^{\circ}$   $10^{\circ}$  ; UR 99%

- coleta em 23 setembro de 2013: Tº 14º C ; UR 94%
- coleta em 21 outubro de 2012: Tº 22º C ; UR 73%
- coleta em 03 dezembro de 2013: Tº 23º ; UR 64%

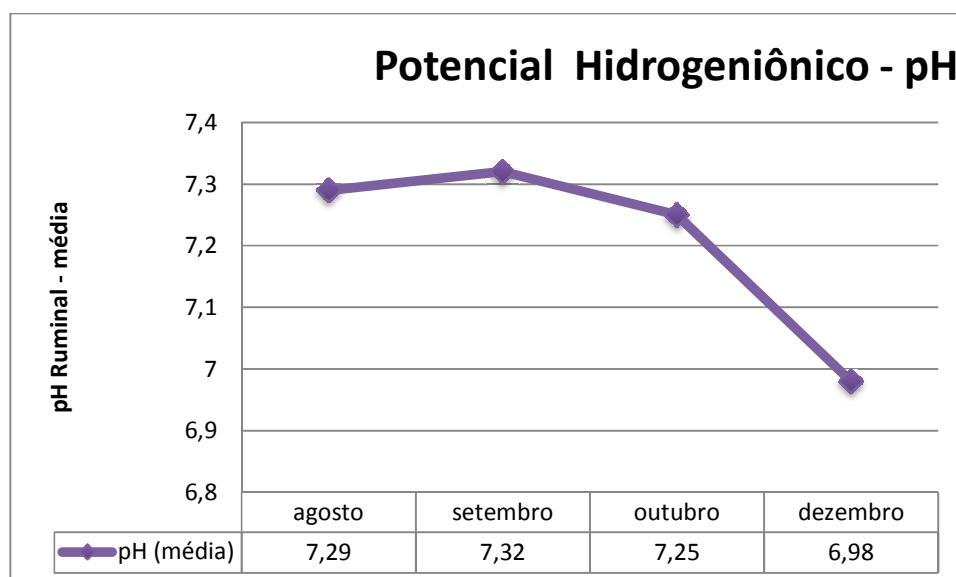


**Figura 6:** Temperatura media mensal (°C) durante os meses de coleta



**Figura 7:** Temperatura média (°C) durante os dias de coleta

Quanto ao pH do material analisado, o mesmo mostrou-se dentro da neutralidade em todas as amostras, apresentando como menor e maior média mensal os valores de 6,98 e 7,32 respectivamente (Figura 8).



**Figura 8:** valor médio de pH encontrado durante as coletas

## 6. DISCUSSÃO

A aferição do pH do conteúdo ruminal dos animais revelou, de modo geral, valores dentro da neutralidade. Isto ocorreu mesmo nas amostras provenientes de animais de propriedades onde a alimentação fornecida era à base de forragens (aveia e azevém), sendo que eram esperados valores mais baixos que os encontrados. Valores ainda menores deveriam ter sido identificados nas cinco propriedades onde os animais eram alimentados com dietas ricas em grãos. Potencialmente essa dieta elevaria a quantidade de ácidos graxos voláteis no rumem consequentemente reduzindo seu pH, diferentemente do observado. (LENAHAN et al., 2010).

O trato digestivo bovino é adequado à fermentação de amido e açúcares a partir de plantas fibrosas que são degradadas por fungos, protozoários e bactérias presentes no rumem. Sua fisiologia é ditada pela presença dessas fibras. Quando os animais são submetidos a dietas pobres em fibras e ricas em grãos, o processo digestivo ocorre de forma adversa, gerando acúmulo de ácidos graxos voláteis que reduzem o pH local. Isso torna o ambiente inóspito à microbiota reduzindo a excreção de patógenos nas fezes (SHANKS et al., 2011).

Os dados encontrados em nosso trabalho contrastam com aqueles encontrados na literatura consultada. Declan et al. (2011) avaliaram o pH do líquido ruminal e das fezes de bovinos submetidos a cinco diferentes dietas: somente capim, capim e concentrado, silagem de capim, apenas feno e silagem de milho com concentrado. Esta última, rica em grãos, apresentou menor pH que as anteriores (5,77). As dietas de capim (6,19) e capim com concentrado (6,11) resultaram em conteúdos ruminais mais ácidos que as dietas de silagem de capim (6,61) e apenas feno (6,54). Quanto aos

valores de pH fecal, não foram encontradas diferenças significativas. Para os autores o pH identificado na dieta rica em grãos está relacionado à quantidade de amido e açúcares facilmente fermentáveis.

Valores de pH semelhantes aos anteriores também foram encontrados por Lenahan et al. (2010) ao analisarem o conteúdo ruminal de bovinos alimentados com dietas que variaram desde o fornecimento de somente capim até a alimentação com silagem adicionada de concentrados. Para os pesquisadores a dieta pode alterar a composição dos AGV e o pH ruminal, mas o grau desta alteração dependerá do tipo do alimento fornecido. Entretanto, os autores reconhecem que o comportamento apresentado pelo líquido ruminal durante seu experimento, não deveria ser considerado como regra uma vez que os testes realizados se deram *in vitro*. Para Lenahan et al. (2010), a raça e a idade dos animais, bem como a presença de microbiota competidora, além de características químicas do rumem em momentos diferentes da digestão, condições somente encontradas *in vivo*, poderiam alterar os resultados observados.

Também podemos levantar a hipótese de que a neutralidade observada no pH das amostras das oito propriedades de nosso estudo talvez seja resultante da distância das mesmas até o frigorífico. Apenas uma fazenda estava a mais de três horas de viagem até a indústria. Todas as outras eram mais próximas. Logo, pode-se deduzir que o jejum de sólidos tenha se iniciado ainda nas unidades de produção, previamente ao carregamento dos bovinos.

Essa prática já citada por Pointon et al. (2012) objetiva minimizar a excreção fecal pelos animais durante o transporte, evitando assim, eventuais sujidades sobre o couro e reduzindo as possibilidades de contaminação cruzada durante a esfolagem dos

bovinos no frigorífico. Em nosso entendimento isso justificaria os índices de neutralidade do pH encontrados no conteúdo ruminal dos animais confinados concorrendo para os três isolamentos identificados.

Assim, dentro dessa hipótese, é possível considerar, ainda em acordo com Poynton et al. (2012) que assim como haveria redução na excreção de fezes por pouca ingestão, aquela por sua vez, seria potencialmente mais contaminada. Logo, uma eventual presença de *Salmonella* no interior do rúmen teria sua multiplicação viabilizada pela baixa produção de ácidos graxos voláteis.

Esses relatos concordam com os dados encontrados por Declan et al. (2011). Estes autores sugerem que a existência de condições brandas presentes no conteúdo ruminal seriam capazes de causar alterações na expressão genética das cepas de *Salmonella* resultando no aumento de sua resistência a ambientes mais ácidos. Isso favoreceria o trânsito dos microrganismos pelo abomaso auxiliando ainda na sua eliminação através das fezes dos indivíduos infectados. Baseado nesses relatos é possível levantar a hipótese que os animais positivos identificados em nosso estudo poderiam também ter excretado *Salmonellas* através das fezes, vindo a contaminar não somente outros indivíduos, mas também as estruturas de contenção e trânsito pertencentes ao frigorífico.

Diante dessas possibilidades e, considerando que nosso experimento baseou-se na análise do conteúdo ruminal, não tendo como objetivo investigar a presença de *Salmonella* spp. nas fezes, alimentos ou outros tipos de amostras, é possível sugerir que a prevalência do agente nos bovinos analisados tenha sido subestimada.

Stephens et al. (2007) relatam que outras unidades amostrais devem ser exploradas, pois a determinação de variados pontos de coleta é fundamental para se determinar a prevalência de *Salmonella* nos bovinos. Esses autores demonstraram que ao trabalharem apenas com amostras de fezes retais estariam subestimando a real positividade dos animais analisados. Ao incluírem em sua pesquisa amostras de *swabs* de couro, coletadas próximas ao jarrete e períneo, os isolamentos da bactéria elevaram-se de 50 para 96%, levando-os a concluírem que o tipo e a localização da amostra são parâmetros críticos a serem considerados quando da determinação da prevalência de *Salmonella* spp em rebanhos confinados.

Os lotes em que o micro-organismo foi isolado em nosso experimento eram constituídos por poucos animais. Os dois primeiros, pela ordem de abate do dia, continham 20 animais cada e neles foi isolado o agente em 15% e 10% deles, respectivamente. Um terceiro com 10 animais apresentou apenas um bovino positivo (10%). É importante observar que o número de bovinos que participaram do experimento representa apenas uma parcela do total de animais presente em suas unidades de criação. Assim, ao citarmos tais prevalências, fazemos referência aos grupos abatidos no dia da coleta. Não se pode descartar a hipótese de outros animais positivos serem encontrados também nas fazendas de origem.

Cabe ressaltar que prevalências iniciais bem menores que as encontradas em nosso estudo chamaram a atenção de Khaita et al. (2007) ao pesquisarem *Salmonella* nas fezes individuais de 144 novilhos distribuídos por 24 baias de confinamento na Dakota do Norte - USA. Na chegada dos animais às instalações, esses autores identificaram que em apenas um deles (0,7%) o agente havia sido isolado. Entretanto,

após seis meses de estabulação, esse número já havia se elevado para 89 animais (62% do rebanho), contaminando 22 das 24 baias ocupadas. Isso evidencia a capacidade do patógeno de sustentar sua infecção no hospedeiro e intermitentemente ser eliminado para o ambiente. Tratava-se de *Salmonella* Typhimurium sorovar. Copenhagen

Diante desses dados, levantamos algumas possibilidades que poderiam justificar nossos achados. É possível que os animais positivos já estivessem contaminados em suas unidades de produção e eliminando a bactéria através das fezes. Entretanto, a contaminação maciça do lote analisado não teria se dado devido ao possível jejum realizado antes do carregamento dos animais, vindo a diminuir a excreção de fezes e a eliminação dos patógenos (POINTON et al., 2012). Neste caso, os animais positivos teriam apenas mantido sua condição de origem como portadores sem, contudo, influenciar na contaminação dos outros membros do grupo. Essa possibilidade é reforçada considerando que, se os bovinos tivessem recebido alimentos antes da viagem, seria esperada maior defecação dos animais devido ao estresse do transporte até o frigorífico (KALCHAYNAND et al., 2009).

Curiosamente, o grupo que apresentou o maior número de amostras positivas (15%) foi também o que teoricamente teria sofrido menor estresse durante o transporte, uma vez que os animais foram submetidos a uma viagem de apenas 70 km. Do mesmo modo, os grupos que demonstraram prevalências menores, 10% (lotes 2 e 3) viajaram 200 km e 302 km respectivamente.

Uma interpretação superficial desses dados poderia nos levar a concluir de maneira errônea que nossos achados contrariam a literatura consultada a qual

correlaciona positivamente o estresse do transporte com a eliminação de patógenos. Entretanto, cabe ressaltar que, a disseminação de *Salmonella* durante o transporte dos bovinos é diretamente proporcional às dificuldades oferecidas pelas condições de viagem destes animais (DEWELL et al., 2008).

Entendemos que apenas o deslocamento, não necessariamente implica em estresse. Devem ser considerados fatores como as condições da estrada percorrida, o manejo humanitário dos animais durante seu carregamento e descarregamento, a superlotação dos veículos, a mistura de bovinos com diferentes origens na mesma baia e o estado fisiológico dos animais, dentre outros.

Khaita et al. (2007) pesquisaram a participação do estresse bovino na disseminação do patógeno durante o transporte. Para os autores a condução dos animais até as plantas frigoríficas em épocas mais frias do ano proporcionariam condições menos estressantes aos animais. Esses dados concordam com Kalchaynand et al. (2009) que observaram menor prevalência de micro-organismos ao longo de seu experimento quando o transporte dos animais ocorreu durante o inverno.

Reicks et al. (2007) citam que não apenas o transporte, mas o manuseio dos animais pode causar condições estressantes. Para os autores isso traria mudanças nos padrões de eliminação fecal aumentando possíveis pontos de contaminação. Para Lenahan et al. (2010), os bovinos destinados ao abate experimentam condições estressantes de inanição ao longo do transporte e também durante o período em que permanecem estabulados aguardando as operações da planta. Esses dados concordam com aqueles encontrados por Woldemariam et al. (2005) que identificaram

como causas de estresse a permanência dos animais no interior de baias superlotadas, aguardando o carregamento nas fazendas ou o abate nos frigoríficos.

Para Pointon et al. (2012), o jejum praticado com os animais seria apenas um, entre tantos fatores, dentro do complexo processo que leva os bovinos ao estresse durante sua condução até as indústrias de abate.

Pangloli et al. (2008) citam que o estado fisiológico do rumem é importante para a colonização e multiplicação das células de *Salmonella*. A interrupção das funções normais do trato gastrointestinal pode permitir sua colonização e multiplicação. Para esses autores, mudanças bruscas na rotina e na qualidade da alimentação, bem como as condições extremas de temperatura e o transporte, teriam influência direta nesse aspecto. Green et al. (2010) acrescentam ainda que a reunião de animais, que não compartilhavam do mesmo convívio, em uma mesma área seria motivo de estresse no grupo havendo entre eles a necessidade de se restabelecer uma hierarquia.

Na análise de riscos realizada por Dewell et al. (2008) para avaliar a participação do transporte na prevalência de *Salmonella* sobre o couro bovino, os autores identificaram que os animais em que a agitação foi grande durante o carregamento até os caminhões, apresentaram o dobro de chances de isolar o patógeno em comparação àqueles que a operação foi realizada de maneira calma.

Outro dado importante a ser considerado é a presença de parasitoses infestando os animais. Looper et al (2006) citam que o estado de infestação é também causador de estresse nos bovinos e pode levar à eliminação de *Salmonella* pelas fezes.

Como visto, as condições estressantes a que estão expostos os animais destinados ao abate não se resumem às longas distancias percorridas por eles. Há, no

entanto, uma complexidade de fatores envolvidos que precisam ser melhor estudados. Desta forma, deduzimos que os bovinos de nosso experimento podem ter sofrido estresse durante seu transito até a unidade de abate, mas seus efeitos na disseminação de *Salmonella* não foram observados pela possível ocorrência de jejum pré-transporte.

É importante que sejam discutidos outros fatores de risco que poderiam ter levado a infecção até os animais estudados. A alimentação fornecida aos três lotes em que o agente foi identificado era baseada no pastoreio de azevem e aveia. Já os cinco lotes negativos foram alimentados a pasto (Brachiaria, Azevem, Aveia) até serem confinados, quando passaram a receber dietas ricas em grãos por 90 dias, em média.

A literatura pesquisada não possibilitou estabelecer correlações diretas entre o isolamento de *Salmonella* e a pastagem consorciada de azevém com aveia. Não foram encontrados relatos que apontassem esses alimentos como fontes do patógeno. Com relação aos lotes confinados, a dieta dos bovinos era baseada no fornecimento de silagem e ração concentrada rica em grãos. A participação destes últimos na redução do pH ruminal já foi discutida em nossa pesquisa. Quanto às silagens, era esperado que suas características ácidas se somassem ao efeito dos grãos contribuindo ainda mais para uma maior acidez ruminal. Entretanto isso não foi evidenciado no momento da coleta. Como já hipotetizado, os valores neutros encontrados para o pH das amostras estaria relacionado ao jejum antes do carregamento dos animais.

Alguns autores têm pesquisado a participação da dieta na disseminação de *Salmonella* spp nos bovinos. Em sua maioria, estudos *in vitro* têm sido realizados para identificar a contribuição de determinados alimentos na sobrevivência e eliminação

destes patógenos no líquido ruminal. Contudo, o papel dos ingredientes da dieta na veiculação de *Salmonella* aos bovinos ainda é pouco conhecido. Na literatura atual são escassos os dados a esse respeito (JACOB et al., 2009, LENAHAN et al., 2010)

Moscardi-Jr. et al. (2003a, 2003b, 2005) pesquisaram *Salmonella* em alimentos oferecidos a bovinos confinados no interior do estado de São Paulo encontrando o agente em amostras de caroço de algodão e núcleo mineral proteico. Esses autores identificaram positividade também nas amostras de fezes e carcaças dos animais alimentados com essa dieta.

Dargatz et al. (2005) pesquisaram *Salmonella* em amostras de milho, feno e silagem fornecidos aos animais em dois confinamentos no Colorado-EUA. Os autores encontraram uma positividade de 5,3% em relação ao total de alimentos investigados (57/1070). Individualmente os alimentos apresentaram percentuais positivos de: 0,6% em 180 amostras de silagem; 0,6% em 180/milho de alta umidade; 1,7% em 360/feno; 4% em 175/milho seco e 24% em 175/alimentos misturados. Dentre os 57 isolamentos, 42 deles ocorreram na ração final (mistura de alimentos). Esses autores concluíram que a contaminação de ingredientes da dieta em confinamentos é aparentemente comum. Mesmo assim, não foram observados casos clínicos de doença nos animais que ingeriram os alimentos.

Jacob et al. (2009) pesquisaram a eliminação fecal de *Salmonella* em bovinos alimentados com grãos de destilaria e rolo seco de milho vindo a concluir que essa dieta não interfere no processo de disseminação do patógeno.

Green et al. (2010) realizaram análise de risco relacionada à presença de *Salmonella* em 73 confinamentos nos EUA. Seus dados permitiram concluir que a

inclusão de alimentos como caroço de algodão, glúten de milho seco, cevada e feno na ração, estão fortemente relacionados ao isolamento da bactéria. Para os autores o glúten de milho e as gorduras presentes no caroço de algodão reduzem a produção de AGV. Em contrapartida, o uso de silagem de sorgo seria responsável pela diminuição dos riscos evidenciados, haja vista a grande quantidade de ácido lático presente em silagens bem fermentadas.

No passado os alimentos mais implicados com a veiculação de *Salmonella* aos animais eram as fontes de proteína de origem animal e vegetal. Como visto, outros ingredientes podem tornar-se contaminados com a bactéria disseminando-a pelo ambiente de criação. Essa contaminação pode ocorrer nas fábricas de produção ou ainda durante o transporte e armazenamento nas fazendas, antes de serem servidos aos animais (DARGARTZ et al., 2005).

É preciso destacar que em nosso estudo a pesquisa de *Salmonella* spp. ocorreu em condições naturais. Procurou-se com isso, investigar a prevalência do patógeno no conteúdo ruminal dos bovinos e discutir possíveis fatores que naturalmente estivessem contribuindo para o isolamento do agente nos animais. A grande maioria dos autores consultados pesquisou a bactéria em amostras de fezes presentes na superfície do couro bovino, no ambiente ou no reto dos bovinos. Poucos tentaram isolar *Salmonella* do interior do rumem. Quando o fizeram, praticaram ensaios *in vitro* e com inoculações artificiais do patógeno.

Lenahan et al. (2010) por exemplo, também afirmam que ainda são poucos os trabalhos que correlacionam a dieta animal com a presença de *Salmonella*. Estes autores realizaram ensaios inoculando artificialmente cepas ácido resistentes e outras

não adaptadas a acidez em amostras de líquido ruminal. Após desafiarem essas amostras com fluido abomasal sintético os autores concluíram que não apenas a dieta fornecida aos animais, mas também características individuais do rumem podem interferir na sobrevivência dos micro-organismos.

Callaway et al. (2011), alimentaram ovelhas confinadas com diferentes porcentagens de derivados cítricos durante 10 dias. Após esse período, os animais foram inoculados, via oral. Com  $2 \times 10^2$  UFC de *Salmonella* Typhimurium e abatidos após 96h da inoculação, retirando-se amostras do conteúdo ruminal para análise. Os dados encontrados não informaram a prevalência da bactéria no material investigado, apenas o papel dos derivados cítricos na redução do agente no interior do rumem.

Em nosso estudo não podemos afirmar que a contaminação teve origem na alimentação oferecida aos animais, pois não foi realizada a análise da mesma. De qualquer maneira, mesmo que isto tenha acontecido, podemos deduzir que no caso dos animais positivos, as condições ruminais não foram eficazes em eliminar o patógeno. No caso dos lotes que ingeriram pasto, havia condições de viabilidade para a sobrevivência de *Salmonella*. Do mesmo modo, os grupos alimentados com dietas ricas em grãos, ao contrário do esperado, apresentaram níveis de pH favoráveis ao isolamento no momento da coleta (LENAHAN et al., 2010).

Assim, dentre os fatores que poderiam ter levado os animais deste estudo ao estado de portadores identificados, levantamos uma segunda possibilidade para explicar a contaminação dos bovinos avaliados. A infecção poderia ter ocorrido de forma fecal oral dentro das instalações do frigorífico, anteriores à sala de abate. A eliminação do micro-organismo por animais positivos, pertencentes aos lotes que

participaram da pesquisa ou a outros lotes que foram abatidos no mesmo dia, poderia ter contaminado estruturas físicas da indústria, responsáveis por conter os novilhos ou conduzi-los ao box de insensibilização.

Baseado nessa interpretação não seria possível afirmar se o lote que deu origem a contaminação dos animais pertencia aos grupos estudados ou a lotes que foram abatidos anteriormente à coleta. De qualquer forma, podemos levantar a hipótese que no mínimo dois, dos três lotes positivos, contaminaram-se no interior das instalações do frigorífico. Dentro da programação diária da indústria os 15% (3/20) de bovinos em que a bactéria foi isolada pertenciam ao oitavo lote abatido naquele dia. Na sequência seguiram para o abate o nono e o décimo lotes que apresentaram em seus animais 10% (2/20) e 10% (1/10) de positividade respectivamente.

Essas evidências são baseadas no fato de que os isolamentos identificados ocorreram todos no mesmo dia, de forma decrescente e sequencial na escala de abate. Antes da passagem destes animais pelos corredores que dão acesso ao interior da indústria, sete outros lotes já haviam por ali transitado. É possível que o material contaminante estivesse presente nas estruturas citadas e com o passar dos animais fosse reduzindo sua dose infectante. Por isso alguns indivíduos se infectaram e outros não. Além disso, o sorovar identificado dentro dos três lotes foi o mesmo, *Salmonella* Schwarzengrund isolado em todas as amostras.

Essa hipótese está de acordo com os achados de Reicks et al. (2007) que pesquisaram o efeito do transporte de bovinos em caminhões sobre a prevalência de *Salmonella* spp. Esses autores identificaram fontes de contaminação relevantes presentes nas áreas de contenção e carregamento tanto das fazendas como nas

indústrias frigoríficas. Seus dados demonstram que o piso, paredes e os trilhos das áreas citadas podem ser fontes de contaminação para os animais que adentram na sala de abate.

Assim, ainda que o tempo de permanência dos animais dentro dos currais de espera fosse insuficiente para o completo transito bacteriano, incluindo a excreção fecal, o isolamento de *Salmonella* na cavidade oral e no rumem destes bovinos contaminados tornou-se possível.

## 7. CONCLUSÕES:

Com base nos resultados obtidos e na discussão efetuada, podemos concluir que:

- a) A detecção do patógeno, mesmo que tenha ocorrido em uma pequena porcentagem de amostras, mostra o potencial que o conteúdo ruminal pode ter na contaminação cruzada de carcaças e cortes, caso as operações de abate não sejam bem realizadas;
- b) Embora todas as amostras tenham mostrado valores de pH próximo da neutralidade, mesmo aquelas provenientes de animais em que a ração oferecida era rica em concentrados, a detecção do patógeno se deu no conteúdo ruminal apenas de animais criados a pasto, evidenciando que a alimentação pode ter uma influência importante na manutenção na viabilidade das células de *Salmonella* no interior do rumen;
- c) A detecção de um único sorotipo em um mesmo dia de coleta permite levantar a hipótese de que a contaminação dos animais tenha se dado na própria indústria, a partir das estruturas físicas, responsáveis por conter os bovinos ou conduzi-los ao box de insensibilização

## 8. REFERÊNCIAS

1. AL-SAIGH, H.; ZWEIFEL, C.; BLANCO, J.; BLANCO, J. E.; BLANCO, M.; USERA, M. A.; AND STEPHAN R. Fecal Shedding of Escherichia coli O157, Salmonella, and Campylobacter in Swiss Cattle at Slaughter. **Journal of Food Protection**, v. 67, p. 679–68, 2004.
2. ANDREWS, W.H.; JUNE, G.A.; SHERROD, P.S.; HAMMAK, T.S.; AMAGUANA, R.M. *Salmonella*. In: FOOD AND DRUG ADMINISTRATION – **Bacteriological analytical manual**, 8 th ed Gaithersburg: AOAC INTERNATIONAL, 1998. p.5.01-5.020.
3. BACON, R. T.; SOFOS, J. N.; BELK, K. E.; HYATT, D. R.; SMITH, G. C. Prevalence and Antibiotic Susceptibility of Salmonella Isolated from Beef Animal Hides and Carcass. **Journal of Food Protection**, v. 65, p. 284-290, 2002.
4. BARHAM, A. R.; BARHAM, B.L.; JOHNSON, A. K.; ALLEN, D. M.; BLANTON-JR, J.R.; MILLER, M.F. Effects of the Transportation of Beef Cattle from the Feed yard to the Packing Plant on Prevalence Levels of Escherichia coli O157 and Salmonella spp. **Journal of Food Protection**, v. 65, p. 280-283, 2002.
5. BARKOCY-GALLAGHER, G. A.; BERRY, E. D.; RIVERA-BETANCOURT, M.; ARTHUR, T. M.; NOU, X.; KOOHMARAIE, M. Development of Methods for the Recovery of Escherichia coli O157:H7 and Salmonella from Beef Carcass Sponge Samples and Bovine Fecal and Hide Samples. **Journal of Food Protection**, v. 65, p. 1527-1534, 2002.
6. BARKOCY-GALLAGHER, G. A.; ARTHUR T.M.; RIVERERA-BETANCOURT, M.; NOU, X.; SHACKELFORD, S.D.; WHEELER, T.L.; KOOHMARAIE, M. Seasonal Prevalence of Shiga Toxin-Producing Escherichia coli, Including O157:H7 and Non-

- O157:H7 Serotypes, and Salmonella in Commercial Beef Processing Plants. **Journal of Food Protection**, v. 66, p. 1978-1986, 2003.
7. BEACH, J. C.; MURANO, E. A.; ACUFF, G. R. Prevalence of Salmonella and Campylobacter in Beef Cattle from Transport to Slaughter. **Journal of Food Protection**, v. 65, p. 1687-1693, 2002a
  8. BEACH, J. C.; MURANO, E. A.; ACUFF, G. R.; Serotyping and Antibiotic Resistance Profiling of Salmonella in Feed and Nonfeedlot Beef Cattle. **Journal of Food Protection**, v. 65, p. 1694-1699, 2002b
  9. BEEFPOINT. O Ponto de Encontro da Cadeia da Carne Bovina. Disponível em: <<http://www.beefpoint.com.br/cadeia-produtiva/especiais/confira-as-projecoes-de-producao-consumo-e-exportacao-de-carne-bovina-no-longo-prazo-2013-2023-relatorio-mapa/>> Acesso em 12 dez. 2013.
  10. BERCHIERI, A. JR.; IRINO, K.; NEME, S.N.; PAULILLO, A.; CALZADA, C.R.; FERREIRA, S.A.; PESSÔA, G.V.A. Contaminação por Salmonella em farinhas de origem animal utilizadas no preparo de ração. **Pesquisa Veterinária Brasileira** v.4, p.83-8, 1984.
  11. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <[www.agricultura.gov.br/animal](http://www.agricultura.gov.br/animal)>. Acesso em 12 dez. 2013.
  12. BRICHTA-HARHAY, D. M.; ARTHUR, T. M.,; BOSILEVAC, J. M.; GUERINI, M. N.; KALCHAYNAND, N.; KOOMARAIE, M. Enumeration of Salmonella and Escherichia coli O157:H7 in ground beef, cattle carcass, hide and faecal samples using direct plating methods. **Journal of Applied Microbiology**, v.103, p. 1657-1668, 2007.

13. CALLAWAY, T. R.; CARROLL, J. A.; ARTHINGTON, J. D.; EDRINGTON, T. S.; ANDERSON, R. C.; GALYEAN, M.L.; RICKE, S.C.; CRANDALL, P.; NISBET, D.J. Orange peel products can reduce Salmonella populations in ruminants. **Foodborne Pathogens and Disease**, v.5, p.621-628, 2008.
14. CALLAWAY, T. R.; CARROLL, J. A.; ARTHINGTON, J. D.; PRATT, C.; EDRINGTON, T. S.; ANDERSON, R. C.; ROSSMAN, M. L.; CARR, M. A.; GENOVESE, K.J.; RICKE, S.C.; CRANDALL, P.; NISBET, D.J. Orange peel products can reduce Salmonella populations in ruminants. **Foodborne Pathogens and Disease**, v.8, p.1071-1076, 2011
15. CLINTON, N.A.; WEAVER, R.W.; HIDALGO, R.J.; Transmission of Salmonella typhimurium among feedlot cattle after oral inoculation. **Journal of Applied Bacteriology**; v.50, p.149-55, 1981.
16. CUMMINGS, K. J.; WARNICK, L. D.; ELTON, M.; GROHN, Y. T.; McDONOUGH, P. L. The effect of clinical outbreaks of salmonellosis on the prevalence of fecal Salmonella shedding among dairy cattle in New York. **Foodborne Pathogens and Diseases**, v.7, p. 815-823, 2010.
17. MEYER, C.; THIEI S.; ULLRICH.; STOLLE A.; Salmonella in raw meat and by-products from pork and beef. **Journal of Food Protection**, v.73, p. 1780-1784, 2010.
18. DARGATZ, D. A.; FEDORKA-CRAY, P. J.; LADELY, S. R.; FERRIS, K. E. Survey of Salmonella Serotypes Shed in Feces of Beef Cows and Their Antimicrobial Susceptibility Patterns. **Journal of Food Protection**, v. 63, p. 1648-1653, 2000.
19. DAVIS, M.A.; HANCOCK, D.D.; RICE, D.H.; CALL, D.R.; DIGIACOMO, R.; SAMADPOUR, M.; BESSER, T.E. Feedstuffs as a vehicle of cattle exposure to Escherichia coli O157:H7 and Salmonella enterica. **Veterinary Microbiology**, v. 95, p. 199-210, 2003.

20. D'AOUST, J.Y.; MAURER, J.; BAILEY, J.S. Salmonella species. In: DOYLE, M.P.; BEUCHAT, L.R.; MONTVILLE, T.J. (Eds). **Food microbiology: fundamentals and frontiers**. Washington: ASM Press, 2001. p.141-178.
21. DECLAN, J. B.; SHANE K.; LENAHAN, M.; FANNING, S. In vitro studies on the effect of pH volatile fatty acid concentration, as influenced by diet, on the survival of inoculated nonacid-and acid-adapted Salmonella in bovin rumen fluid and feces. **Foodborne Pathogens and Disease**, v.8, p. 609-613, 2011.
22. DEWELL, G. A.; SIMPSON, C. A.; DEWELL, R. D.; HYATT, D. R.; BELK, K. E.; SCANGA, J. A.; MORLEY, P. S.; GRANDIN, T.; SMITH, G. C.; DARGATZ, D. A.; WAGNER, B. A.; SALMAN, M. D. Risk associated with transportation and lairage on hide contamination with Salmonella enterica in finished beef cattle at slaughter. **Journal of Food Protection**; v. 71, p. 2228-2232, 2008.
23. DONKERSGOED, J. V.; GRAHAM, T.; GANNON, V. The prevalence of verotoxins, Escherichia coli O157:H7, and Salmonella in the feces and rumen of cattle at processing. **Canadian Veterinary Journal**, v. 40, p. 332-338, 1999.
24. DOS SANTOS, E. J.; CARVALHO, E.P.; SANCHES, R.L.; BARRIOS, B.E.B.; Qualidade microbiológica de farinhas de carne e ossos produzidas no Estado de Minas Gerais para produção de ração animal. **Ciência Agrotecnologia**.; v. 24, p. 425-433, 2000.
25. DURAND, A. M.; GIESECKE, W.H.; BARNARD, M.; VAN DER WALT, M.L.; STEYN, H.C. Salmonella isolated from feeds and feed ingredients during the period 1982-1988: animal and public health implications. Onderstepoort **Journal of Veterinary Research**, v.57, p. 175-81, 1990.

26. FEDORKA-CRAY, P.J.; DARGATZ, D. A.; THOMAS, L. A.; GRAY, J.T. Survey of Salmonella setotypes in feedlot cattle. **Journal of Food Protection**, v. 61, p. 525-30, 1998.
27. FROST, A.J.; O'BOYLY, D.; SAMUEL, J.L. The isolation of Salmonella spp. from feed lot cattle managed under different conditions before slaughter. **Australian Veterinary Journal**, v.65, p.224-225, 1988.
28. GREEN, A. L.; DARGATZ, D. A.; WAGNER, B. A.; FEDORKA-CRAY, P. J.; LADELLE, S. R.; KOPRAL, C. A. Analysis of risk factors associated with Salmonella spp. Isolated from U.S. feedlot cattle. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 7, p. 825-833, 2010.
29. GRIFFIN, D. Respiratory disease in feedlot cattle. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.14, p.199-231, 1998.
30. JACOB, E. M.; FOX, J. T.; DROUILLARD, J. S.; RENTER, D. G.; NAGAJARA, T. G. Evaluation of feeding dried distiller's grains with solubles and dry-rolled corn on the fecal prevalence of Escherichia coli O157:H7 and Salmonella spp. In cattle. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 6, p. 145, 2009.
31. JACKSON, G.J.; LANGFORD, C.F.; ARCHER, D.L. Control of salmonellosis and similar foodborne infections. **Food Control**, v.2, p.26-34, 1991.
32. JONES, F.T.; AXTELL, R.C.; RIVES, D.V.; SCHEIDELER, S.E.; TARVER, F.R.; WALKER, R.L.; WINELAND, M.J. A survey of Salmonella contamination in modern broiler production. **Journal of Food Protection**, v.54, p.502-7, 1991.
33. KALCHAYANAND, N.; BRICHTA-HARHAY, D. M.; TERRANCE M. A.; BOSILEVAC, J. M.; M. N.; WHEELER, T. L.; SHACKELFORD, S. D.; MOHAMMAD KOOHMARAIE. Prevalence rates of Escherichia coli O157:H7 and Salmonella at

- different sampling sites on cattle hides at a feedlot and processing plant. **Journal of Food Protection**, v. 72, p. 1267-1271, 2009.
34. KHAITSA, M. L.; KEGODE, R. B.; BAUER, M. L.; GIBBS, P. S.; LARDY, G. P.; DOETKOTT, D. K. A longitudinal study of Salmonella shedding and antimicrobial resistance patterns in North Dakota feedlot cattle. **Journal of Food Protection**, v.70, p.476-481, 2006
35. LENAHAN, M.; KELLY, S.; FANNING, S.; BOLTON, D. J. The effect of bovine diet on Salmonella survival in synthetic abomasal fluid. **Journal of Applied Microbiology**, v. 109, p. 2060-2068, 2010.
36. LETELLIER, A.; MESSIER, S.; PARÉ, J.; MENARD, J.; QUESSY, S.; Distribution of Salmonella in swine herds in Québec. **Veterinary Microbiology**, v. 67, p. 299-306, 1999.
37. LOOPER, M. L.; EDRINGTON, T. S.; FLORES, R.; ROSENKRANS, C. F.; NIHSEN, M. E.; AIKEN, G.E. Prevalence of Escherichia coli O157:H7 and Salmonella in beef steers consuming different forage diets. **Letters in Applied Microbiology**, v. 42, p 583-588, 2006.
38. LOSINGER, W.C.; GARBER, L.P.; SMITH, M.A.; HURD, H.S.; BIEHL, L.G.; FEDORKA-CRAY, P.J.; THOMAS, L.A.; FERRIS, K. Management and nutritional factors associated with the detection of Salmonella sp. from cattle fecal specimens from feedlot operations in the United States. **Preventive Veterinary Medicine**, v.31, p. 231-44, 1997.
39. McEVOY, J. M.; DOHERTY, A. M.; SHERIDAN, J. J.; BLAIR, I. S.; McDOWELL, D, A.; The prevalence of Salmonella spp. in bovine faecal, rumen and carcass samples at a commercial abattoir. **Journal of Applied Microbiology**, v. 94, p. 693-700, 2003.

40. MATTILA, BY T.; FROST, A. J.; O'BOYLE, D. The growth of Salmonella in rumen form cattle at slaughter. **Epidem Inf.**, v.101, p. 337-345, 1988.
41. MOSCARDI-JR.; E.; LANDRAF, F. M.; DESTRO, M. T.; FRANCO, B.D.G.M.; SAKATE, R.I.; NOGUEIRA-PINTO, J.P.A. Ocorrência de Salmonella spp.; na produção de bovinos de corte por confinamento e nas respectivas carcaças dos animais abatidos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 22. , 2003, Florianópolis. **Anais do Congresso Brasileiro de Microbiologia**, Florianópolis: SBM, 2003a. 1 CD-ROM.
42. MOSCARDI-JR.; E.; LANDRAF, F. M.; DESTRO, M. T.; FRANCO, B.D.G.M.; SAKATE, R.I.; NOGUEIRA-PINTO, J.P.A. Salmonella spp. no arraçoamento de bovinos criados sob confinamento. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 22, 2003, Florianópolis. **Anais do Congresso Brasileiro de Microbiologia**, Florianópolis: SBM, 2003b. 1 CD-ROM.
43. MOSCARDI-JR. E.; LANDRAF, F. M.; DESTRO, M. T.; FRANCO, B. D. G. M.; SAKATE, R. I.; NOGUEIRA-PINTO, J. P. A. Presença de Salmonella spp. na cadeia produtiva da carne bovina: estudo das fontes de contaminação para novilhos criados sob confinamento experimental [dissertação]. Botucatu, SP: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, Universidade do Estado de São Paulo; 2005.
44. PANGLOLI, P.; DJE, Y.; AHMED, O.; DOANE, C.A.; OLIVER, S. P.; DRAUGHON, F. A. Seasonal incidence and molecular characterization of Salmonella from dairy cows, calves and farm environment. **Foodborne Pathogens and Diseases**, v.5, p. 87-96, 2008.

45. POINTON, A.; KIERMEIER, A.; FEGAN, N. Review of the impact of pre-slaughter feed curfews of cattle, sheep and goats on food safety and carcass hygiene in **Australian Food Control**, v.26, p. 313-321, 2012.
46. POPOFF, M.Y.; BOCKEMÜHL, J.; BRENNER, F.W.; GHEESLING, L.L. Supplement 2000 (nº. 46) to the Kauffmann-White scheme. **Research Microbiology**, 2002. in pres.
47. POPPE, C.; SAMRT, N.; KHAKHRIA, R.; JOHNSON, W.; SPIKA, J.; PRESCOTT, J. Salmonella typhimurium DT 104: a virulent and drug-resistant pathogen. **Canadian Veterinary Journal**, v.39, p.559-65, 1998.
48. PUYALTO, C.; COLMIN, C.; LAVAL, A.; Salmonella typhimurium contamination from farm to meta in adult cattle. Descriptive study. **Veterinary Research**, v. 28, p. 449-460, 1997.
49. REICKS, A. L.; BRASHEARS, M. M. ; ADAMS, K. D.; BROOKS, J. C.; BLANTON, J. R AND. MILLER, M. F. Impact of Transportation of Feedlot Cattle to the Harvest Facility on the Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella*, and Total Aerobic Microorganisms on Hides. **Journal of Food Protection**, v. 70, p. 17–21, 2007
50. REID, C.A.; AVERY,S.M.; HUTCHINSON, M.L.; BUNCIC,S.; Evaluation of sampling methods to assess the microbiological status of cattle hides. **Food Control**, v. 13, p. 405-410, 2002.
51. RIVERA-BETANCOURT, M.; SHACKELFORD, S. D.; ARTHUR, T. M.; WESTMORELAND, K. E.; BELLINGER, G.; ROSSMAN, M.; REAGAN, J. O.; KOOHMARAIE, M.; Prevalence of *Escherichia coli* O 157:H7, *Listeria*

- monocytogenes, and Salmonella in Two Geographically Distant Commercial Beef Processing Plants in the United States. **Journal of Food Protection**, v. 67, p. 295-302, 2004.
52. SHANKS, O. C.; KELTY, C. A.; ARQUIBEQUE, S.; JENKINS, M.; NEWTON, R. J.; McLELLAN, S. L.; HUSE, S. M.; SOGIN, M. L. Community structures of fecal bacteria in cattle from different animal feeding operations. **Applied and Environmental Microbiology**, v.77, p. 2992-3001, 2011.
53. SMITH, R. A.; GRIFFIN, D. D.; DARGATZ, D. A.; The risks and prevention of contamination of beef feedlot cattle: the perspective of the United States of America. **Revue Scientifique et Technique**, v. 16, p. 359-368, 1997.
54. SORENSEN, O.; DONDERSGOED, J. V.; McFALL, M.; MANNINEN, K.; GENSLER, G.; OLLIS, G.; Salmonella spp. shedding by Alberta beef cattle the detection of Salmonella spp. In ground beef. **Journal of Food Protection**, v.65, p. 484-491, 2002.
55. STEPHENS, T. P.; LONERAGAN, G. H.; THOMPSON, T. W.; SRIDHARA, A.; BRANHAM, L. A.; PITCHIAH, S.; BRASHEARS, M. M. Distribution of Escherichia coli O157:H7 and Salmonella on hide surfaces, the oral cavity, and in feces of feedlot cattle. **Journal of Food Protection**, v. 70, p. 1346-1349, 2007.
56. TABE, E. S.; OLOYA, J.; DOETKOTT, D. K.; BAUER, M. L.; GIBBS, P. S.; KHAITSA, M. L. Comparative effect of direct-fed microbials on fecal shedding of Escherichia coli O157:H7 and Salmonella in naturally infected feedlot cattle. **Journal of Food Protection**, v.71, p. 539-544, 2008.
57. TAVECHIO, A.T.; FERNANDES, S.A.; NEVES, B.C.; DIAS, A.M.G.; IRINO, K. Changing patterns of Salmonella serovars: increase of Salmonella Enteritidis in São Paulo, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, v. 38, p.315-322, 1996.

58. VELGE, P.; WIEDEMANN, A.; ROSSELIN, M.; ABED, N.; BOUMART, Z.; CHAUSSÉ, A. M.; GRÉPINET, O.; NAMDARI, F.; ROCHE, S. M.; ROSSIGNOL, A.; VIRLOGEUX-PAYANT, I. Multiplicity of Salmonella entry mechanisms a new paradigm for Salmonella pathogenesis. **Microbiology Open**, v.1,p. 243-258, 2012.
59. WOLDEMARIAM, E.; MOLLA, B.; ALEMAYEHU, E. MUCKLE, A. Prevalence and distribution of Salmonella in apparently healthy slaughtered sheep and goats in Debre Zeit, Ethiopia. **Small Ruminant Research**, v.58, p. 19-24, 2005.
60. WOUNDERGROUND.COM Disponivel em:  
[http://www.wunderground.com/history/airport/SBBI/2013/10/21/DailyHistory.html?req\\_city=NA&req\\_state=NA&req\\_statena me=NA](http://www.wunderground.com/history/airport/SBBI/2013/10/21/DailyHistory.html?req_city=NA&req_state=NA&req_statena me=NA) Acesso em 07 jan.2014.

## **9. TRABALHO CIENTÍFICO**

**PRESENÇA E TIPIFICAÇÃO DE *SALMONELLA* spp. NO CONTEÚDO RUMINAL DE BOVINOS PÓS-ABATE**

**PRESENCE AND CHARACTERIZATION OF *SALMONELLA* spp. IN RUMINAL CONTENTS OF CATTLE POST-SLAUGHTER**

**PRESENCIA Y CARACTERIZACIÓN DE *SALMONELLA* spp EN CONTENIDO RUMINAL DE BOVINOS DESPUÉS DEL SACRIFICIO**

## PRESENÇA E TIPIFICAÇÃO DE *Salmonella* spp. NO CONTEÚDO RUMINAL DE BOVINOS PÓS-ABATE

### RESUMO

O Brasil lidera o ranking de maior exportador de carne bovina no mundo desde 2008. Garantir a segurança microbiológica desses alimentos tem sido um dos principais focos da indústria processadora de carnes. A aplicação de análises nas diversas etapas do processo industrial tem sido vital para implantar e manter programas de autocontrole como o APPCC. Entre as enfermidades mais frequentes causadas pela ingestão de alimentos contaminados, especialmente os de origem animal, destacam-se as salmoneloses, sendo que sua transmissão se dá primariamente pela via fecal oral. Diante disso, esse trabalho teve como objetivo pesquisar a presença de *Salmonella* spp. em amostras de conteúdo ruminal coletadas durante o abate de bovinos em uma planta frigorífica localizada na região metropolitana de Curitiba - PR. Duzentos e dois animais distribuídos em oito lotes foram avaliados entre os meses de agosto a dezembro de 2013. Ao final do experimento, 37,5% dos lotes mostraram-se positivos para o agente sendo que 2,97% (6/202) das amostras de conteúdo ruminal isolaram o micro-organismo. A totalidade dos animais positivos recebia como alimento apenas pasto de azevém e aveia. Não foi observada a influência de fatores como o estresse do transporte ou temperatura ambiental sobre o isolamento do patógeno. Entretanto a detecção do mesmo sorovar, *Salmonella* Schwarzengrund na totalidade dos isolamentos nos permite levantar a hipótese de que a contaminação dos animais tenha se dado na própria indústria, a partir das estruturas físicas, responsáveis por conter os bovinos ou conduzi-los ao box de insensibilização.

**Palavras chave:** *Salmonella* Schwarzengrund, conteúdo ruminal, *Salmonella* na carne bovina.

## PRESENCE AND CHARACTERIZATION OF *Salmonella* spp. IN RUMINAL CONTENTS OF CATTLE POST-SLAUGHTER

### ABSTRACT

Brazil leads the world ranking of bovine meat exportation since 2008. To ensure the microbiological safety of these food products has been one of the primary focuses of the meat processing industry. The application of analyses on diverse stages of the industrial process has been vital for deploy and keeping of self-control programs like APPCC. Beyond the most frequent diseases caused by the ingestion of contaminated food, specially animal origin ones, the salmonellosis stand out being transmitted primarily via fecal-oral route. In light of this, the work had the objective to research the presence of *Salmonella* spp. in rumen fluid samples collected during cattle slaughter at a slaughtering plant localized in Curitiba's metropolitan area. Two hundred animals distributed over eight lots was evaluated between august and december, 2013. At the end of the experiment, 37.5% of the lots were positive for the agent of which 2.97% (6/202) of samples of rumen contents isolated the micro-organism. The total of the positive animals had been feed with ryegrass pastures and oat. Not the influence of factors like transportation stress or environment temperature over pathogen isolation was observed. However, the detection of the same serovar, *Salmonella* Schwarzengrund on overall insulation allow us to raise the hypothesis that all animal contamination have been given inside the industry itself, from the infrastructure responsible of holding the cattle or conducting it to the stunning box.

**Keywords:** *Salmonella* Schwarzengrund, rumen fluid, *Salmonella* on bovine meat.

## PRESENCIA Y CARACTERIZACIÓN DE *Salmonella* spp EN CONTENIDO RUMINAL DE BOVINOS DESPUÉS DEL SACRIFICIO

### RESUMEN

Brasil lidera el ranking de mayor exportador de carne del mundo desde 2008. Garantizar la seguridad microbiológica de estos alimentos ha sido un foco importante de la industria de procesamiento de carnes. La aplicación de análisis en las diversas etapas del proceso industrial ha sido vital para implantar y mantener autocontroles como el APPCC. Entre las enfermedades más frecuentes causadas por el consumo de alimentos contaminados, especialmente de origen animal, se destacan la salmonelosis, siendo que su transmisión se produce principalmente por la vía fecal oral. Por lo tanto, este estudio tuvo como objetivo investigar la presencia de *Salmonella* spp. en muestras de contenido ruminal recogidas durante el sacrificio de ganado en un matadero frigorífico localizado en la región metropolitana de Curitiba - PR. Doscientos dos animales distribuidos en ocho lotes fueron evaluados entre los meses de agosto y diciembre de 2013. Al final del experimento, 37,5 % de los lotes fueron positivos para el agente de los cuales 2,97 % (6/ 202) de muestras del contenido ruminal aislaron el microorganismo. La totalidad de los animales positivos recibieron como alimento sólo raigrás y avena. No se observó la influencia de los factores como el estrés del transporte o la temperatura ambiental sobre el aislamiento del patógeno. Sin embargo la detección el mismo serovar, *Salmonella* Schwarzengrund en la totalidad de los aislamientos nos permite levantar la hipótesis de que la contaminación de los animales se ha producido en la propia industria, a partir de las estructuras físicas, responsables por contener el ganado o llevarlos al cajón de insensibilización.

**Palabras clave:** *Salmonella* Schwarzengrund, contenido ruminal, *Salmonella* en la carne de vacuno.

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil lidera o ranking de maior exportador de carne bovina no mundo desde 2008 e as estatísticas apontam para um crescimento nas exportações de 2,15% para os próximos anos (1). Ainda assim, são poucas as informações da prevalência de agentes patogênicos específicos nos animais que chegam para o abate nas plantas frigoríficas (2, 3). A aplicação de análises nas diversas etapas do processo industrial tem sido vital para implantar e manter programas de autocontrole como o APPCC – Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (4). Entretanto, há necessidade de dados mais específicos sobre a prevalência de micro-organismos potencialmente patogênicos como *Salmonella*.

A pesquisa desse agente no conteúdo ruminal tem sido realizada, mas apresenta dados muito escassos, embora informações importantes possam ser obtidas a partir de seu encontro neste tipo de material, já que ele pode ser indicativo das reais condições de criação dos bovinos a pasto ou em confinamentos (5). Tais relatos poderiam contribuir na composição de uma base de dados sobre a presença de *Salmonella* spp. em bovinos criados sob nossas condições, sejam elas extensivas ou intensivas e, dessa forma, auxiliar no estabelecimento de estratégias que garantam a qualidade sanitária das carcaças, cortes e produtos derivados produzidos no país.

### 1.1 *Salmonella* sp.

O gênero *Salmonella* é constituído por duas espécies: *Salmonella bongori* e *Salmonella* entérica, esta com seis subespécies. Nenhum outro patógeno bacteriano pertencente a uma única espécie mostra tamanha habilidade para infectar diferentes hospedeiros e induzir formas variadas de doença como ela (6). As salmoneloses estão entre as causas mais frequentes de doenças veiculadas por alimentos de origem animal, sendo que a transmissão se dá primariamente pela via fecal oral. (7). Sua presença é uma ameaça à saúde do consumidor e um risco para a economia da indústria da carne (8, 9). Estes agentes têm levado enfermidades aos seres humanos através dos animais destinados à alimentação, a despeito do empenho de muitas indústrias na redução de cargas microbiológicas nas carcaças e produtos cárneos (10).

Em consequência disso, alguns autores tem conduzido pesquisas buscando estratégias para diminuir o número de micro-organismos nos animais antes mesmo do abate (3). É necessário que os bovinos adentrem as indústrias carregando a menor carga de patógenos como consequência de um controle sanitário efetuado ainda nas fazendas (11). Só assim os riscos representados por agentes zoonóticos carregados pelos animais abatidos poderão ser minimizados (12, 9).

Vários são os micro-organismos causadores de enfermidades transmitidas por alimentos e sua origem nas unidades de produção animal é bem conhecida. No entanto, muito pouco se sabe sobre sua ecologia, principalmente no interior de unidades de confinamento (13, 14). Este manejo com características próprias de reunir animais de várias regiões em um mesmo local e submetê-los a diversos tipos de alimentos, pode abrigar fontes potenciais de contaminação do rebanho (15, 16). Cabe ressaltar a participação de outras espécies domésticas como os ovinos e caprinos na disseminação desta bactéria quando criados em conjunto com os bovinos (8).

Alguns autores têm relatado a influência de determinados fatores nos isolamentos de *Salmonella* spp. Tem-se observado por exemplo, que a positividade das amostras é crescente e diretamente proporcional ao tempo de permanência dos animais que compartilham a mesma área (7, 15). Isso ressalta a importância de se monitorar individualmente os bovinos a fim de que

1 possam ser identificados portadores assintomáticos segregando-se indivíduos que poderiam atuar  
2 como fontes de contaminação para o restante do grupo.

3 A influência da época do ano sobre a prevalência do patógeno nos rebanhos também tem  
4 sido objeto de vários estudos. De modo geral, os autores observaram uma maior prevalência do  
5 agente durante os meses quentes do ano ou ainda, naquelas regiões mais quentes durante uma  
6 mesma estação (14, 17, 18, 19, 20, 5).

7 A alimentação oferecida aos animais é outro ponto estudado sendo fonte potencial de  
8 contaminação por *Salmonella* spp. Seu isolamento em amostras de alimentos antes do  
9 fornecimento aos animais é um indicativo do risco a que esse grupo está sujeito, uma vez que as  
10 quantidades amostradas para análise laboratorial são ínfimas quando comparadas aos grandes  
11 silos em que se encontram estocados (21, 22, 23, 18, 19). Vários trabalhos têm sugerido que a  
12 dieta pode ser usada para manipular a composição dos ácidos graxos voláteis – AGV e o pH do  
13 rumem interferindo na viabilidade dos micro-organismos. Entretanto os relatos são conflitantes  
14 sobre qual seria o alimento ideal capaz de reduzir a eliminação de agentes patogênicos nas fezes  
15 (3, 11, 5). Diante dessa preocupação, alguns pesquisadores têm focado seus trabalhos na busca de  
16 propriedades antibióticas naturalmente presentes em alguns alimentos (10).

17 A identificação de diversos sorovares nas várias pesquisas realizadas, bem como a  
18 participação dos mesmos como possíveis agentes etiológicos das salmoneloses em humanos, têm  
19 sido um importante ponto de discussão nos trabalhos publicados. (24, 25, 25, 27, 8, 7, 15). Do  
20 mesmo modo o papel de animais que atuam como vetores na disseminação do agente em  
21 ambientes de criação deve ser considerado (28, 29).

22 Outro fator relevante relacionado à contaminação dos lotes de animais por *Salmonella*  
23 refere-se ao estresse sofrido pelos mesmos durante o transporte em caminhões no trajeto das  
24 fazendas de criação até o frigorífico. Vários autores têm observado um aumento da eliminação do  
25 patógeno através das fezes, por portadores assintomáticos, contribuindo para a contaminação do  
26 couro dos demais indivíduos do lote (30, 31, 32, 33, 34, 35, 36). Como estratégia de prevenção  
27 contra esses riscos microbiológicos, tem se praticado o jejum de sólidos pré abate a fim de que  
28 mesmo havendo eventuais acidentes dentro da sala de matança durante a evisceração dos  
29 bovinos, a contaminação decorrente seja a menor possível (37).

30 As próprias estruturas físicas de alojamento de animais nos frigoríficos, quando mal  
31 higienizadas, representam risco de contaminação para os lotes (35). Diante desses dados, é  
32 possível observar que a etapa da esfola é uma das principais fontes de contaminação cruzada para  
33 carcaças no interior de plantas frigoríficas (38; 39, 17, 40, 20, 12, 35, 41). Assim manter a  
34 higiene durante todas as etapas do abate é fundamental para evitar o comprometimento  
35 microbiológico da carne.

36 A literatura consultada mostra que a rota mais comum para a contaminação de carcaças e  
37 ambientes tem como via principal a eliminação das bactérias através das fezes. Acrescenta ainda  
38 que o rumem é um reservatório de patógenos potenciais recolonizadores do trato intestinal de  
39 forma que se as populações de *Salmonella* pudessem ser reduzidas ainda em seu interior,  
40 aumentariam as chances de sucesso das medidas aplicadas para o controle deste agente (10).  
41 Diante disso, alguns autores têm estudado o perfil microbiológico e físico-químico do conteúdo  
42 ruminal e o seu papel na disseminação do patógeno, mas não há um consenso entre os trabalhos  
43 consultados sobre qual seria a dieta ideal capaz de reduzir a eliminação fecal dos agentes (42, 17,  
44 3, 5, 10, 11, 37).

1 Em nosso país, no entanto, apesar de ser ele atualmente o principal produtor mundial de  
2 carne bovina, ainda são escassos os dados relativos à prevalência de *Salmonella* spp nesse  
3 produto. No caso do gado confinado, dados resultantes do projeto de pesquisa de Moscardi-Jr et  
4 al. (43) financiado pela FAPESP (Proc. nº 02/11146-1), indicaram uma prevalência de 6,66%  
5 dentre os 60 animais analisados e 1,24% dentre as 322 amostras de fezes obtidas dos mesmos,  
6 todos estabulados por um período médio de 6 meses (18, 19).

7 O trabalho desenvolvido por esses autores foi realizado em uma unidade de confinamento  
8 experimental, sob condições ideais de manejo e sanidade dos lotes estabulados. Nesse sentido,  
9 torna-se importante realizar estudos adicionais que contemplem rebanhos criados sob condições  
10 naturais, confinados ou a pasto, haja vista que no Brasil poucas são as informações sobre a  
11 prevalência de *Salmonella* spp em bovinos, tanto aqueles criados extensivamente como os  
12 submetidos a regimes de confinamento. Torna-se interessante ainda que a pesquisa do patógeno  
13 se dê no conteúdo ruminal, pois os trabalhos realizados em nosso país em que se procurou  
14 detectar *Salmonella* nos animais destinados ao abate, foram utilizadas amostras de fezes e couro.

15 Os dados obtidos no presente estudo poderão contribuir para um melhor entendimento do  
16 papel deste agente na criação dos bovinos sob nossas condições, haja vista a importância do  
17 Brasil no mercado produtor de carne bovina.

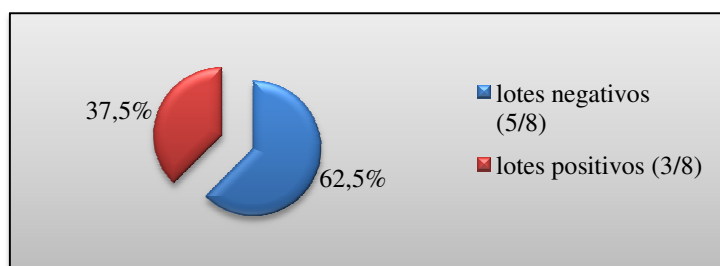
## 18 19 **2. MATERIAL E MÉTODOS**

20 Durante os meses de agosto, setembro, outubro e dezembro de 2013, duzentos e dois  
21 bovinos abatidos num frigorífico da região metropolitana de Curitiba - PR participaram do estudo  
22 para a pesquisa de *Salmonella* spp. no conteúdo ruminal. Em média 50 animais foram analisados  
23 a cada mês. Porções do conteúdo ruminal eram recolhidas de cada indivíduo imediatamente após  
24 sua despança durante o abate. Com o auxílio de dois colaboradores com mãos enluvasadas,  
25 realizava-se a ordenha do rumem até que fosse expelido conteúdo pela abertura esofágica. Esse  
26 material era recolhido em coletores universais estéreis com capacidade média de 80 mL cada,  
27 sendo identificados com a posição dos animais na escala de abate e armazenados sob refrigeração  
28 em caixa isotérmica. Ao término de cada coleta eram levantadas informações sobre a origem dos  
29 bovinos junto ao Serviço de Inspeção local. As amostras eram transportadas até o laboratório da  
30 Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Paraná onde ocorria a aferição do  
31 pH e realização das análises microbiológicas (44).

## 32 33 **3. RESULTADOS:**

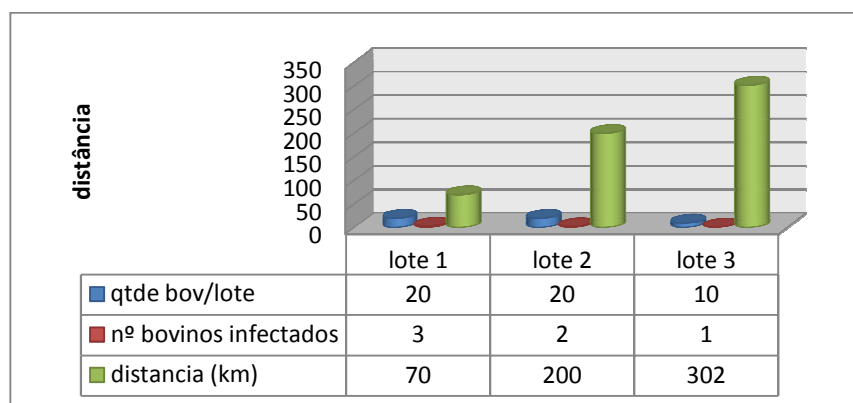
34 Foram analisadas 202 amostras de conteúdo ruminal, sendo que em seis delas (2,97%)  
35 isolou-se *Salmonella* spp. Dentre os oito lotes investigados, três (37,5%) mostraram-se positivos  
36 para o patógeno, todos no mesmo dia de coleta e no mês de outubro (Figura 1). O primeiro lote  
37 positivo era composto por 20 animais, dos quais três (15%) foram positivos. No segundo lote,  
38 também com 20 bovinos, o agente pôde ser isolado em dois deles (10%) enquanto que no  
39 terceiro, com 10 animais, em apenas um animal isolou-se *Salmonella* spp. (10%). Todas as cepas  
40 foram sorotipadas pela FIOCRUZ – Rio de Janeiro identificando um único sorovar: *Salmonella*.  
41 Schwarzengrund.

42



1  
2 **Figura 1:** Prevalência de *Salmonella* spp nos lotes avaliados

3  
4 As distâncias entre as propriedades e o frigorífico variaram entre 70 km e 468 km sendo  
5 que os bovinos positivos ficaram assim distribuídos: três isolamentos para a propriedade mais  
6 próxima (70 km) dois isolamentos para 200 km e um para 302 km (Figura 2).  
7

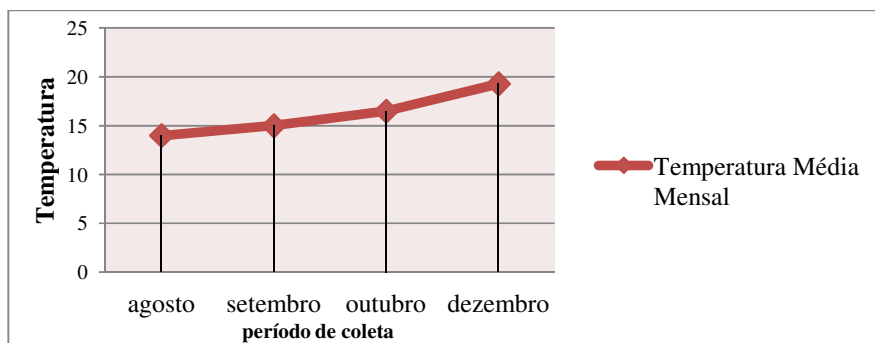


8  
9 **Figura 2:** Quantidade de animais por lote abatido, número de bovinos infectados por *Salmonella*  
10 spp. e distância entre as propriedades e o frigorífico

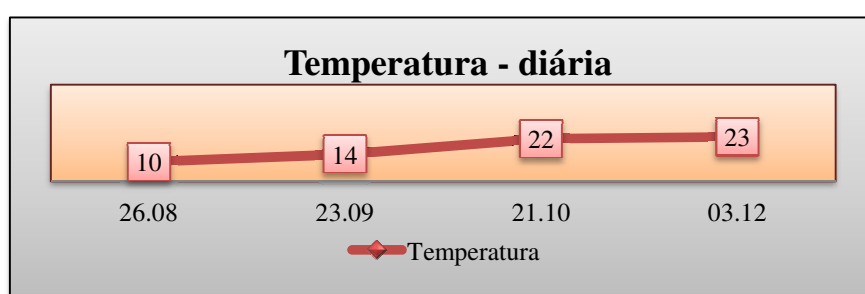
11  
12 Quanto à alimentação fornecida aos animais, das oito propriedades avaliadas, duas delas  
13 faziam recria em pastagens de azevém e aveia e confinavam os animais em média por 90 dias  
14 (silagem de milho planta + ração peletizada). Três outras retiravam os animais de pastagens de  
15 *Brachiaria brizanta* e finalizavam a engorda por confinamento em média por 75 dias (silagem de  
16 cevada + milho moído + trigoilho + farelo de soja e núcleo mineral). As outras três restantes  
17 concluíam a recria e engorda em pastagens consorciadas de azevem com aveia fornecendo sal  
18 mineral livremente no cocho. Nestes três últimos lotes foram detectadas as amostras positivas  
19 para *Salmonella*.

20 Durante os dias de coleta a temperatura (T°) e umidade relativa (UR) do ar apresentaram  
21 as seguintes características (Figuras 3 e 4):

- 22 - coleta em 26 agosto de 2013: T° 10°; UR 99%  
23 - coleta em 23 setembro de 2013: T° 14° C; UR 94%  
24 - coleta em 21 outubro de 2012: T° 22° C; UR 73%  
25 - coleta em 03 dezembro de 2013: T° 23°; UR 64%  
26

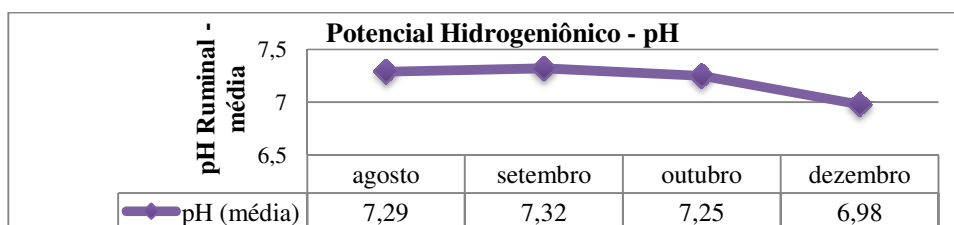


1  
2 **Figura 3:** Temperatura média mensal (°C) durante os meses de coleta



3  
4 **Figura 4:** Temperatura média (°C) durante os dias de coleta

5  
6  
7 Quanto ao pH do material analisado, o mesmo mostrou-se dentro da neutralidade em  
8 todas as amostras, apresentando como menor e maior média mensal os valores de 6,98 e 7,32  
9 respectivamente (Figura 5).



10  
11 **Figura 5:** valor médio de pH encontrado durante as coletas

#### 12 **4. DISCUSSÃO**

13  
14  
15 A aferição do pH do conteúdo ruminal dos animais revelou, de modo geral, valores dentro  
16 da neutralidade. Isto ocorreu mesmo nas amostras provenientes de animais de propriedades onde  
17 a alimentação fornecida era à base de grãos. Potencialmente essa dieta elevaria a quantidade de  
18 ácidos graxos voláteis no rúmen consequentemente reduzindo seu pH, diferente do observado (3).  
19 O trato digestivo bovino é adequado à fermentação de amido e açúcares a partir de plantas  
20 fibrosas que são degradadas por fungos, protozoários e bactérias presentes no rúmen. Sua  
21 fisiologia é ditada pela presença dessas fibras. Quando os animais são submetidos a dietas pobres  
22 em fibras e ricas em grãos, o processo digestivo ocorre de forma adversa, gerando acúmulo de  
23 ácidos graxos voláteis que reduzem o pH local. Isso torna o ambiente inóspito à microbiota  
24 presente (45).

1 Os dados encontrados em nosso trabalho contrastam com aqueles encontrados na  
2 literatura consultada. Declan et al. (5) avaliaram o pH do líquido ruminal e das fezes de bovinos  
3 submetidos a cinco diferentes dietas: somente capim, capim e concentrado, silagem de capim,  
4 apenas feno e silagem de milho com concentrado. Esta última, rica em grãos, apresentou menor  
5 pH que as anteriores (5,77). As dietas de capim (6,19) e capim com concentrado (6,11)  
6 resultaram em conteúdos ruminiais mais ácidos que as dietas de silagem de capim (6,61) e apenas  
7 feno (6,54). Quanto aos valores de pH fecal, não foram encontradas diferenças significativas.  
8 Para os autores o pH identificado na dieta rica em grãos está relacionado à quantidade de amido e  
9 açúcares facilmente fermentáveis.

10 Valores de pH semelhantes aos anteriores também foram encontrados por Lenahan et al.  
11 (3) ao analisarem o conteúdo ruminal de bovinos alimentados com dietas que variaram desde o  
12 fornecimento de somente capim até a alimentação com silagem adicionada de concentrados. Para  
13 os pesquisadores a dieta pode alterar a composição dos AGV e o pH ruminal, mas o grau dessa  
14 alteração dependerá do tipo do alimento fornecido. Entretanto, os autores reconhecem que o  
15 comportamento apresentado pelo líquido ruminal durante seu experimento, não deveria ser  
16 considerado como regra uma vez que os testes realizados se deram *in vitro*. Para Lenahan et al.  
17 (3), a raça e a idade dos animais, bem como a presença de microbiota competidora, além de  
18 características químicas do rúmen em momentos diferentes da digestão, condições somente  
19 encontradas *in vivo*, poderiam alterar os resultados observados.

20 Também podemos levantar a hipótese de que a neutralidade observada no pH das  
21 amostras das oito propriedades de nosso estudo esteja relacionada com a distância das mesmas  
22 até o frigorífico. Apenas uma fazenda estava a mais de três horas de viagem até a indústria. Todas  
23 as outras eram mais próximas. Logo, pode-se deduzir que o jejum de sólidos tenha se iniciado  
24 ainda nas unidades de produção, previamente ao carregamento dos bovinos.

25 Essa prática já citada por Pointon et al. (37) objetiva minimizar a excreção fecal pelos  
26 animais durante o transporte, evitando assim, eventuais sujidades sobre o couro e reduzindo as  
27 possibilidades de contaminação cruzada durante a esfolagem dos bovinos no frigorífico. Em nosso  
28 entendimento isso justificaria os índices de neutralidade do pH encontrados no conteúdo ruminal  
29 dos animais confinados concorrendo para os três isolamentos identificados.

30 Diante dessas observações pode-se considerar, ainda em acordo com Pointon et al. (37)  
31 que assim como haveria redução na excreção de fezes por pouca ingestão, aquela por sua vez, seria  
32 potencialmente mais contaminada. Logo, uma eventual presença de *Salmonella* no interior do  
33 rúmen teria sua multiplicação viabilizada pela baixa produção de ácidos graxos voláteis. Essa  
34 hipótese concorda com os dados encontrados por Declan et al. (5) que citam que a existência de  
35 condições brandas presentes no conteúdo ruminal seriam capazes de causar alterações na  
36 expressão genética das cepas de *Salmonella* resultando no aumento de sua resistência a ambientes  
37 mais ácidos. Isso favoreceria o trânsito dos micror-organismos pelo abomaso auxiliando ainda na  
38 sua eliminação através das fezes dos indivíduos infectados. Baseado nessas informações é  
39 possível sugerir que os animais positivos identificados em nosso estudo poderiam também ter  
40 excretado *Salmonellas* através das fezes, vindo a contaminar não somente outros indivíduos, mas  
41 também as estruturas de contenção e trânsito pertencentes ao frigorífico.

42 Diante dessas possibilidades e, considerando que nosso experimento baseou-se na análise  
43 do conteúdo ruminal, não tendo como objetivo investigar a presença de *Salmonella* spp. nas  
44 fezes, alimentos ou outros tipos de amostras, é possível supor que a prevalência do agente nos  
45 bovinos analisados tenha sido subestimada.

1 A esse respeito Stephens et al. (46) relatam que outras unidades amostrais devem ser  
2 exploradas, pois a determinação de variados pontos de coleta é fundamental para se determinar a  
3 prevalência de *Salmonella* nos bovinos. Esses autores demonstraram que ao trabalharem apenas  
4 com amostras de fezes retais estariam subestimando a real positividade dos animais analisados.  
5 Ao incluírem em sua pesquisa amostras de *swabs* de couro, coletadas próximas ao jarrete e  
6 períneo, os isolamentos da bactéria elevaram-se de 50 para 96%, levando-os a concluírem que o  
7 tipo e a localização da amostra são parâmetros críticos a serem considerados quando da  
8 determinação da prevalência de *Salmonella* spp nos bovinos.

9 Os lotes em que o micro-organismo foi isolado em nosso experimento eram constituídos  
10 por poucos animais. Os dois primeiros, pela ordem de abate do dia, continham 20 animais cada e  
11 foi isolado o agente em 15% e 10% deles, respectivamente. Um terceiro com 10 animais  
12 apresentou apenas um indivíduo positivo (10%). É importante observar que o número de bovinos  
13 que participaram do experimento representa apenas uma parcela do total de animais presente em  
14 suas unidades de criação. Assim, ao citarmos tais prevalências, fazemos referência aos grupos  
15 abatidos no dia da coleta. Não se pode descartar a possibilidade de outros animais positivos ainda  
16 permanecerem nas fazendas de origem.

17 Cabe ressaltar que prevalências iniciais bem menores que as encontradas em nosso estudo  
18 chamaram a atenção de Khaita et al. (7) ao pesquisaram *Salmonella* nas fezes individuais de 144  
19 novilhos distribuídos por 24 baias de confinamento na Dakota do Norte - USA. Na chegada dos  
20 animais às instalações, esses autores identificaram que em apenas um deles (0,7%) o agente havia  
21 sido isolado. Entretanto, após seis meses de estabulação, esse número já havia se elevado para 89  
22 animais (62% do rebanho), contaminando 22 das 24 baias ocupadas. Isso evidencia a capacidade  
23 do patógeno de sustentar sua infecção no hospedeiro e intermitentemente ser eliminado para o  
24 ambiente. Tratava-se de *Salmonella* Typhimurium sorovar Copenhagen

25 Diante desses dados, levantamos algumas possibilidades que poderiam justificar nossos  
26 achados. É possível que os animais positivos já estivessem contaminados em suas unidades de  
27 produção e eliminando a bactéria através das fezes. Entretanto, a contaminação maciça do lote  
28 analisado não teria se dado devido ao possível jejum realizado antes do carregamento dos  
29 animais, vindo a diminuir a excreção de fezes e a eliminação dos patógenos (37). Neste caso, os  
30 animais positivos teriam apenas mantido sua condição de origem como portadores sem, contudo,  
31 influenciar na contaminação dos outros membros do grupo. Essa possibilidade é reforçada  
32 considerando que, se os bovinos tivessem recebido alimentos antes da viagem, seria esperada  
33 maior defecação dos animais devido ao estresse do transporte até o frigorífico e consequente  
34 disseminação do agente (9).

35 Curiosamente, o grupo que apresentou o maior número de amostras positivas (15%) foi  
36 também o que teoricamente teria sofrido menor estresse durante o transporte, uma vez que os  
37 animais foram submetidos a uma viagem de apenas 70 km. Do mesmo modo, os grupos que  
38 demonstraram prevalências menores, 10% (lotes 2 e 3) viajaram 200 km e 302 km  
39 respectivamente.

40 Uma interpretação superficial desses dados poderia nos levar a concluir, de maneira  
41 errônea, que nossos achados contrariam a literatura consultada a qual correlaciona positivamente  
42 o estresse do transporte com a eliminação de patógenos. Entretanto, é importante destacar que a  
43 disseminação de *Salmonella* durante o transporte dos bovinos é diretamente proporcional às  
44 dificuldades oferecidas pelas condições de viagem destes animais (36).

1 Entendemos que apenas o deslocamento, não necessariamente implica em estresse.  
2 Devem ser considerados fatores como as condições da estrada percorrida, o manejo humanitário  
3 dos animais durante seu carregamento e descarregamento, a superlotação dos veículos, a mistura  
4 de bovinos com diferentes origens na mesma baía e o estado fisiológico dos animais, dentre  
5 outros.

6 Khaita et al. (7) pesquisaram a participação do estresse bovino na disseminação do  
7 patógeno durante o transporte. Para os autores a condução dos animais até as plantas frigoríficas  
8 em épocas mais frias do ano proporcionariam condições menos estressantes aos animais. Esses  
9 dados concordam com Kalchaynand et al. (9) que observaram menor prevalência de micro-  
10 organismos ao longo de seu experimento quando o transporte dos animais ocorreu durante o  
11 inverno.

12 Reicks et al. (35) citam que não apenas o transporte, mas o manuseio dos animais pode  
13 causar condições estressantes. Para os autores isso traria mudanças nos padrões de eliminação  
14 fecal aumentando possíveis pontos de contaminação. Para Lenahan et al. (3), os bovinos  
15 destinados ao abate experimentam condições estressantes de inanição ao longo do transporte e  
16 também durante o período em que permanecem estabulados aguardando as operações da planta.  
17 Esses dados concordam com aqueles encontrados por Woldemariam et al. (8) que identificaram  
18 como causas de estresse para os bovinos, sua permanência no interior de baias superlotadas,  
19 aguardando o carregamento nas fazendas ou o abate nos frigoríficos.

20 Para Pointon et al. (37), o jejum praticado com os animais seria apenas um, entre tantos  
21 fatores, dentro do complexo processo que leva os bovinos ao estresse durante sua condução até as  
22 indústrias de abate. Green et al. (16) acrescentam ainda que a reunião de animais, que não  
23 compartilhavam do mesmo convívio, em uma mesma área seria motivo de estresse no grupo.  
24 Haveria entre eles a necessidade de se restabelecer uma hierarquia.

25 Na análise de riscos realizada por Dewell et al. (36) para avaliar a participação do  
26 transporte na prevalência de *Salmonella* sobre o couro bovino, os autores identificaram que os  
27 animais em que a agitação foi grande durante o carregamento até os caminhões, apresentaram o  
28 dobro de chances de isolar o patógeno em comparação àqueles em que a operação foi realizada  
29 de maneira calma. Outro dado importante a ser considerado é a presença de parasitoses  
30 infestando os animais. Looper et al. (47) citam que o estado de infestação é também causador de  
31 estresse nos bovinos e pode levar à eliminação de *Salmonella* pelas fezes.

32 Como visto, as condições estressantes a que estão expostos os animais destinados ao abate  
33 não se resumem às longas distâncias percorridas por eles. Há, no entanto, uma complexidade de  
34 fatores envolvidos que precisam ser melhor estudados. Desta forma, deduzimos que os bovinos  
35 de nosso experimento podem ter sofrido estresse durante seu trânsito até a unidade de abate, mas  
36 seus efeitos na disseminação de *Salmonella* não foram observados pela possível ocorrência de  
37 jejum pré-transporte.

38 É importante que sejam discutidos outros fatores de risco que poderiam ter levado a  
39 infecção até os animais estudados. A alimentação fornecida aos três lotes em que o agente foi  
40 identificado era baseada no pastoreio de azevem e aveia. Já os cinco lotes negativos foram  
41 alimentados a pasto (*Brachiaria*, *Azevem*, *Aveia*) até serem confinados, quando passaram a  
42 receber dietas ricas em grãos por 90 dias, em média.

43 A literatura pesquisada não possibilitou estabelecer correlações diretas entre o isolamento  
44 de *Salmonella* e a pastagem consorciada de azevem com aveia. Não foram encontrados relatos  
45 que apontassem esses alimentos como fontes do patógeno. Com relação aos lotes confinados, a

1 dieta dos bovinos era baseada no fornecimento de silagem e ração concentrada rica em grãos. A  
2 participação destes últimos na redução do pH ruminal já foi discutida em nossa pesquisa. Quanto  
3 às silagens, era esperado que suas características ácidas se somassem ao efeito dos grãos  
4 contribuindo ainda mais para uma maior acidez ruminal. Entretanto isso não foi evidenciado no  
5 momento da coleta onde foram identificados índices neutros de pH.

6 Alguns autores têm pesquisado a participação da dieta na disseminação de *Salmonella* spp  
7 nos bovinos. Em sua maioria, estudos *in vitro* têm sido realizados para identificar a contribuição  
8 de determinados alimentos na sobrevivência e eliminação destes patógenos no líquido ruminal.  
9 Contudo, o papel dos ingredientes da dieta na veiculação de *Salmonella* aos bovinos ainda é  
10 pouco conhecido. Na literatura atual são escassos os dados a esse respeito (2, 3).

11 Moscardi-Jr. et al. (18, 19, 43) pesquisaram *Salmonella* em alimentos oferecidos a  
12 bovinos confinados no interior do estado de São Paulo encontrando o agente em amostras de  
13 caroço de algodão e núcleo mineral proteico. Esses autores identificaram positividade também  
14 nas amostras de fezes e carcaças dos animais alimentados com essa dieta.

15 Dargatz et al. (26) pesquisaram *Salmonella* em amostras de milho, feno e silagem  
16 fornecidos aos animais em dois confinamentos no Colorado-EUA. Os autores encontraram uma  
17 positividade de 5,3% em relação ao total de alimentos investigados (57/1070). Individualmente  
18 os alimentos apresentaram percentuais positivos de: 0,6% em 180 amostras de silagem; 0,6% em  
19 180/milho de alta umidade; 1,7% em 360/feno; 4% em 175/milho seco e 24% em 175/alimentos  
20 misturados. Dentre os 57 isolamentos, 42 deles ocorreram na ração final (mistura de alimentos).  
21 Esses autores concluíram que a contaminação de ingredientes da dieta em confinamentos é  
22 aparentemente comum. Mesmo assim, não foram observados casos clínicos de doença nos  
23 animais que ingeriram os alimentos.

24 Jacob et al. (2) pesquisaram a eliminação fecal de *Salmonella* em bovinos alimentados  
25 com grãos de destilaria e rolo seco de milho vindo a concluir que essa dieta não interfere no  
26 processo de disseminação do patógeno.

27 Green et al. (16) realizaram análise de risco relacionada à presença de *Salmonella* em 73  
28 confinamentos nos EUA. Seus dados permitiram concluir que a inclusão de alimentos como  
29 caroço de algodão, glúten de milho seco, cevada e feno na ração, estão fortemente relacionados  
30 ao isolamento da bactéria. Para os autores o glúten de milho e as gorduras presentes no caroço de  
31 algodão reduzem a produção de AGV. Em contrapartida, o uso de silagem de sorgo seria  
32 responsável pela diminuição dos riscos evidenciados, haja vista a grande quantidade de ácido  
33 láctico presente em silagens bem fermentadas.

34 No passado os alimentos mais implicados com a veiculação de *Salmonella* aos animais  
35 eram as fontes de proteína de origem animal e vegetal. Como visto, outros ingredientes podem  
36 tornar-se contaminados com a bactéria disseminando-a pelo ambiente de criação. Essa  
37 contaminação pode ocorrer nas fábricas de produção ou ainda durante o transporte e  
38 armazenamento nas fazendas, antes de serem servidos aos animais (26).

39 É preciso destacar que em nosso estudo a pesquisa de *Salmonella* spp. ocorreu em  
40 condições naturais. Procurou-se com isso, investigar a prevalência do patógeno no conteúdo  
41 ruminal dos bovinos e discutir possíveis fatores que naturalmente estivessem contribuindo para o  
42 isolamento do agente nos animais. A grande maioria dos autores consultados pesquisou a bactéria  
43 em amostras de fezes presentes na superfície do couro bovino, no ambiente ou no reto dos  
44 animais. Poucos tentaram isolar *Salmonella* do interior do rúmen e, quando o fizeram, praticaram  
45 ensaios *in vitro* com inoculações artificiais do patógeno.

1 Lenahan et al. (3) por exemplo, também afirmam que ainda são poucos os trabalhos que  
2 correlacionam a dieta animal com a presença de *Salmonella*. Estes autores realizaram ensaios  
3 inoculando artificialmente cepas ácido resistentes e outras não adaptadas a acidez em amostras de  
4 líquido ruminal. Após desafiarem essas amostras com fluido abomasal sintético os autores  
5 concluíram que não apenas a dieta fornecida aos animais, mas também características individuais  
6 do rúmen podem interferir na sobrevivência dos micro-organismos.

7 Callaway et al. (11), alimentaram ovelhas confinadas com diferentes porcentagens de  
8 derivados cítricos durante 10 dias. Após esse período, os animais foram inoculados, via oral.  
9 Com  $2 \times 10^2$  UFC de *Salmonella* Typhimurium e abatidos após 96h da inoculação, retirando-se  
10 amostras do conteúdo ruminal para análise. Os dados encontrados não informaram a prevalência  
11 da bactéria no material investigado, apenas o papel dos derivados cítricos na redução do agente  
12 no interior do rúmen.

13 Em nosso estudo não podemos afirmar que a contaminação teve origem na alimentação  
14 oferecida aos animais, pois não foi realizada a análise da mesma. De qualquer maneira, mesmo  
15 que isso tenha acontecido, podemos deduzir que no caso dos animais positivos, as condições  
16 ruminais não foram eficazes em eliminar o patógeno. No caso dos lotes que ingeriram pasto,  
17 havia condições de viabilidade para a sobrevivência de *Salmonella*. Do mesmo modo, os grupos  
18 alimentados com dietas ricas em grãos, ao contrário do esperado, apresentaram níveis de pH  
19 favoráveis ao isolamento no momento da coleta (3).

20 Assim, dentre os fatores que poderiam ter levado os animais deste estudo ao estado de  
21 portadores identificados, acreditamos que a infecção poderia ter ocorrido de forma fecal oral  
22 dentro das instalações do frigorífico, anteriores à sala de abate. A eliminação do micro-organismo  
23 por animais positivos, pertencentes aos lotes que participaram da pesquisa ou a outros lotes que  
24 foram abatidos no mesmo dia, poderia ter contaminado estruturas físicas da indústria,  
25 responsáveis por conter os novilhos ou conduzi-los ao box de insensibilização.

26 Baseado nessa interpretação não seria possível afirmar se o lote que deu origem a  
27 contaminação dos animais pertencia aos grupos estudados ou a lotes que foram abatidos  
28 anteriormente à coleta. De qualquer forma, podemos sugerir que no mínimo dois, dos três lotes  
29 positivos, contaminaram-se no interior das instalações do frigorífico. Dentro da programação  
30 diária da indústria os 15% (3/20) de bovinos em que a bactéria foi isolada pertenciam ao oitavo  
31 lote abatido naquele dia. Na sequência seguiram para o abate o nono e o décimo lotes que  
32 apresentaram em seus animais 10% (2/20) e 10% (1/10) de positividade respectivamente.

33 Essas evidências são baseadas no fato de que os isolamentos identificados ocorreram  
34 todos no mesmo dia, de forma decrescente e sequencial na escala de abate. Antes da passagem  
35 destes animais pelos corredores que dão acesso ao interior da indústria, sete outros lotes já  
36 haviam por ali transitado. É possível que o material contaminante estivesse presente nas  
37 estruturas citadas e com o passar dos animais fosse reduzindo sua dose infectante. Por isso alguns  
38 indivíduos se infectaram e outros não. Além disso, o sorovar identificado dentro dos três lotes foi  
39 o mesmo, *Salmonella* Schwarzengrund isolado em todas as amostras.

40 Essa hipótese está de acordo com os achados de Reicks et al. (35) que pesquisaram o  
41 efeito do transporte de bovinos em caminhões sobre a prevalência de *Salmonella* spp. Esses  
42 autores identificaram fontes de contaminação relevantes presentes nas áreas de contenção e  
43 carregamento tanto das fazendas como nas indústrias frigoríficas. Seus dados demonstram que o  
44 piso, paredes e os trilhos das áreas citadas podem ser fontes de contaminação para os animais que  
45 adentram na sala de abate.

1 Assim, ainda que o tempo de permanência dos animais dentro dos currais de espera fosse  
2 insuficiente para o completo trânsito bacteriano, incluindo a excreção fecal. O isolamento de  
3 *Salmonella* na cavidade oral e no rúmen desses bovinos contaminados tornou-se possível.

## 5. CONCLUSÕES:

7 Com base nos resultados obtidos e na discussão efetuada, podemos concluir que:

- 8 a) A detecção do patógeno, mesmo que tenha ocorrido em uma pequena porcentagem de  
9 amostras, demonstra o potencial que o conteúdo ruminal pode ter na contaminação  
10 cruzada de carcaças e cortes, caso as operações de abate não sejam bem realizadas;
- 11 b) Embora todas as amostras tenham apresentado valores de pH próximos da  
12 neutralidade, mesmo aquelas provenientes de animais em que a ração oferecida era  
13 rica em concentrados, a detecção do patógeno se deu no conteúdo ruminal apenas de  
14 animais criados a pasto, evidenciando que a alimentação pode ter uma influência  
15 importante na manutenção da viabilidade das células de *Salmonella* no interior do  
16 rumen;
- 17 c) A detecção de um único sorovar em um mesmo dia de coleta permite levantar a  
18 hipótese de que a contaminação dos animais tenha se dado na própria indústria, a  
19 partir das estruturas físicas, responsáveis por conter os bovinos ou conduzi-los ao box  
20 de insensibilização.

## 6. REFERÊNCIAS

- 24 1. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em:  
25 <[www.agricultura.gov.br/animal](http://www.agricultura.gov.br/animal)>. Acesso em 12 dez. 2013.
- 26 2. Jacob EM, Fox JT, Drouillard JS, Renter DG, Nagajara TG. Evaluation of feeding dried  
27 distiller's grains with solubles and dry-rolled corn on the fecal prevalence of *Escherichia*  
28 *coli* O157:H7 and *Salmonella* spp. in cattle. *Foodborne Pathog. Dis.* 2009;6:145.
- 29 3. Lenahan M, Kelly S, Fanning S, Bolton DJ. The effect of bovine diet on *Salmonella*  
30 survival in synthetic abomasal fluid. *J. Appl. Microbiol.* 2010;109:2060-2068.
- 31 4. Brichta-Harhay DM, Arthur TM, Bosilevac JM, Guerini MN, Kalchaynand N,  
32 Koomaraie M. Enumeration of *Salmonella* and *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef,  
33 cattle carcass, hide and faecal samples using direct plating methods. *J. Appl. Microbiol.*  
34 2007;103:1657-1668.
- 35 5. Declan JB, Shane K, Lenahan M, Fanning S. In vitro studies on the effect of pH volatile  
36 fatty acid concentration, as influenced by diet, on the survival of inoculated nonacid-and  
37 acid-adapted *Salmonella* in bovin rumen fluid and feces. *Foodborne Pathog. Dis.*  
38 2011;8:609-613.
- 39 6. Velge P, Wiedemann A, Rosselin M, Abed N, Boumart Z, Chaussé AM, Grépinet O,  
40 Nandari F, Roche SM, Rossignol A, Virlogeux-Payant I. Multiplicity of *Salmonella* entry  
41 mechanisms a new paradigm for *Salmonella* pathogenesis. *Microbiol. Op.* 2012;1:243-  
42 258.

- 1 7. Khaita ML, Kegode RB, Bauer ML, Gibbs PS, Lardy GP, Doetkott DK. A longitudinal  
2 study of *Salmonella* shedding and antimicrobial resistance patterns in North Dakota  
3 feedlot cattle. *J. Food Prot.* 2006;70:476-481.
- 4 8. Woldemariam E, Molla B, Alemayehu E, Muckle A. Prevalence and distribution of  
5 *Salmonella* in apparently healthy slaughtered sheep and goats in Debre Zeit, Ethiopia.  
6 *Small Rumin. Res.* 2005;58:19-24.
- 7 9. Kalchayanand N, Brichta-Harhay DM, Terrance MA, Bosilevac JM, Guerini MN,  
8 Wheeler TL, Shackelford SD, Koohmaraie M. Prevalence rates of *Escherichia coli*  
9 O157:H7 and *Salmonella* at different sampling sites on cattle hides at a feedlot and  
10 processing plant. *J. Food Prot.* 2009;72:1267-1271.
- 11 10. Callaway TR, Carroll JA, Arthington JD, Edrington TS, Anderson RC, Galyean ML,  
12 Ricke SC, Crandall P, Nisbet DJ. Orange peel products can reduce *Salmonella*  
13 populations in ruminants. *Foodborne Pathog. Dis.* 2008;5:621-628.
- 14 11. Callaway TR, Carroll JA, Arthington JD, Pratt C, Edrington TS, Anderson RC, Rossman  
15 ML, Carr MA, Genovese KJ, Ricke SC, Crandall P, Nisbet DJ. Orange peel products can  
16 reduce *Salmonella* populations in ruminants. *Foodborne Pathog. Dis.* 2011;8:1071-1076.
- 17 12. Al-Saigh H, Zweifel C, Blanco J, Blanco JE, Blanco M, Usera MA, Stephan R. Fecal  
18 Shedding of *Escherichia coli* O157, *Salmonella*, and *Campylobacter* in Swiss Cattle at  
19 Slaughter. *J. Food Prot.* 2004;67:679-68.
- 20 13. Smith RA, Griffin DD, Dargatz DA. The risks and prevention of contamination of beef  
21 feedlot cattle: the perspective of the United States of America. *Revue Scient. Tech.*  
22 1997;16:359-368.
- 23 14. Barkocy-Gallagher GA, BERRY, E. D.; Rivera-Betancourt M, Arthur TM, Nou X,  
24 Koohmaraie M. Development of Methods for the Recovery of *Escherichia coli* O157:H7  
25 and *Salmonella* from Beef Carcass Sponge Samples and Bovine Fecal and Hide Samples.  
26 *J. Food Prot.* 2002;65:1527-1534.
- 27 15. Tabe ES, Oloya J, Doetkott DK, Bauer ML, Gibbs PS, Khaita ML. Comparative effect of  
28 direct-fed microbials on fecal shedding of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* in  
29 naturally infected feedlot cattle. *J. Food Prot.* 2008;71:539-544.
- 30 16. Green AL, Dargatz DA, Wagner BA, Fedorka-Cray PJ, LADELLY SR, Koprak CA.  
31 Analysis of risk factors associated with *Salmonella* spp. Isolated from U.S. feedlot cattle.  
32 *Foodborne Pathog. Dis.* 2010;7:825-833.
- 33 17. McEvoy JM, Doherty AM, Sheridan JJ, Blair IS, McDowell DA. The prevalence of  
34 *Salmonella* spp. in bovine faecal, rumen and carcass samples at a commercial abattoir. *J.*  
35 *Appl. Microbiol.* 2003;94:693-700.
- 36 18. Moscardi-Jr E, Landraf FM, Destro MT, Franco BDGM, Sakate RI, Nogueira-Pinto JPA.  
37 Ocorrência de *Salmonella* spp.; na produção de bovinos de corte por confinamento e nas  
38 respectivas carcaças dos animais abatidos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE  
39 MICROBIOLOGIA, 22, 2003, Florianópolis. Anais do Congresso Brasileiro de  
40 Microbiologia, Florianópolis: SBM, 2003a. 1 CD-ROM.
- 41 19. Moscardi-Jr E, Landraf FM, Destro MT, Franco BDGM, Sakate RI, Nogueira-Pinto JPA.  
42 *Salmonella* spp. no arraçamento de bovinos criados sob confinamento. In:  
43 CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 22, 2003, Florianópolis. Anais do  
44 Congresso Brasileiro de Microbiologia, Florianópolis: SBM, 2003b. 1 CD-ROM.

- 1 20. Rivera-Betancourt M, Shackelford SD, Arthur TM, Westmoreland KE, Bellinger G,  
2 Rossman M, Reagan JO, Koohmaraie M. Prevalence of *Escherichia coli* O 157:H7,  
3 *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella* in Two Geographically Distant Commercial  
4 Beef Processing Plants in the United States. *J. Food Prot.* 2004;67:295-302.
- 5 21. Durand AM, Giesecke WH, Barnard M, Van Der Walt ML, Steyn HC. *Salmonella*  
6 isolated from feeds and feed ingredients during the period 1982-1988: animal and public  
7 health implications. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 1990;57:175-81.
- 8 22. Losinger WC, Garber LP, Smith MA, Hurd HS, Biehl LG, Fedorka-Cray PJ, Thomas LA,  
9 Ferris K. Management and nutritional factors associated with the detection of *Salmonella*  
10 sp. from cattle fecal specimens from feedlot operations in the United States. *Prev. Vet.*  
11 *Med.* 1997;31:231-44.
- 12 23. Davis MA, Hancock DD, Rice DH, Call DR, Digiacomio R, Samadpour M, Besser TE.  
13 Feedstuffs as a vehicle of cattle exposure to *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella*  
14 *enterica*. *Vet. Microbiol.* 2003;95:199-210.
- 15 24. Tavechio AT, Fernandes SA, Neves BC, Dias AMG, Irino K. Changing patterns of  
16 *Salmonella* serovars: increase of *Salmonella* Enteritidis in São Paulo, Brazil. *Rev. do Inst.*  
17 *de Med. Trop. São Paulo.* 1996;38:315-322.
- 18 25. Fedorka-Kray PJ, Dargatz DA, Thomas LA, Gray JT. Survey of *Salmonella* serotypes in  
19 feedlot cattle. *J. Food Prot.* 1998;61:525-30.
- 20 26. Dargatz DA, Fedorka-Cray PJ, Ladely SR, Ferris KE. Survey of *Salmonella* Serotypes  
21 Shed in Feces of Beef Cows and Their Antimicrobial Susceptibility Patterns. *J. Food Prot.*  
22 2000;63:1648-1653.
- 23 27. D'aoust JY, Mauer J, Bailey JS, Doyle MP, Beuchat LR, Montville TJ. *Salmonella*  
24 species. In: *Food microbiology: fundamentals and frontiers*. Washington: ASM Press,  
25 2001. p.141-178.
- 26 28. Jones FT, Axtell RC, Rives DV, Scheideler SE, Tarver FR, Walker RL, Wineland MJ. A  
27 survey of *Salmonella* contamination in modern broiler production. *J. Food Prot.*  
28 1991;54:502-7.
- 29 29. Letellier A, Messier S, Paré J, Menard J, Quessy S. Distribution of *Salmonella* in swine  
30 herds in Québec. *Vet. Microbiol.* 1999;67:299-306.
- 31 30. Puyalto C, Colmin C, Laval A. *Salmonella typhimurium* contamination from farm to meta  
32 in adult cattle. Descriptive study. *Vet. Res.* 1997; 28:449-460.
- 33 31. Bacon RT, Sofos JN, Belk KE, Hyatt DR, Smith GC. Prevalence and Antibiotic  
34 Susceptibility of *Salmonella* Isolated from Beef Animal Hides and Carcass. *J. Food Prot.*  
35 2002;65:284-290.
- 36 32. Barham AR, Barham BL, Johnson AK, Allem DM, Blanton-Jr JR, Miller MF. Effects of  
37 the Transportation of Beef Cattle from the Feed yard to the Packing Plant on Prevalence  
38 Levels of *Escherichia coli* O157 and *Salmonella* spp. *J. Food Prot.* 2002;65:280-283.
- 39 33. Beach JC, Murano EA, Acuff GR. Prevalence of *Salmonella* and *Campylobacter* in Beef  
40 Cattle from Transport to Slaughter. *J. Food Prot.* 2002a;65:1687-1693.
- 41 34. Sorensen O, Donkersgoed JV, McFall M, Manninen K, Gensler G, Ollis G. *Salmonella*  
42 spp. shedding by Alberta beef cattle the detection of *Salmonella* spp. In ground beef. *J.*  
43 *Food Prot.* 2002;65:484-491.
- 44 35. Reicks AL, Brashears MM, Adams KD, Brooks JC, Blanton JR, Miller MF. Impact of  
45 Transportation of Feedlot Cattle to the Harvest Facility on the Prevalence of *Escherichia*

- 1 coli O157:H7, *Salmonella*, and Total Aerobic Microorganisms on Hides. J. Food Prot.  
2 2007;70:17–21.
- 3 36. Dewell GA, Simpson CA, Dewell RD, Hyatt DR, Belk KE, Scanga JA, Morley PS,  
4 Grandin T, Smith GC, Dargatz DA, Wagner BA, Salman MD. Risk associated with  
5 transportation and lairage on hide contamination with *Salmonella* enterica in finished  
6 beef cattle at slaughter. J. Food Prot. 2008;71:2228-2232,
- 7 37. Pointon A, Kiermeier A, Fegan N. Review of the impact of pre-slaughter feed curfews of  
8 cattle, sheep and goats on food safety and carcass hygiene. Aust. Food Cont.  
9 2012;26:313-321.
- 10 38. Donkersgoed JV, Grahan T, Gannon V. The prevalence of verotoxins, *Escherichia coli*  
11 O157:H7, and *Salmonella* in the feces and rumen of cattle at processing. Can. Vet.  
12 J.1999;40:332-338.
- 13 39. Reid CA, Avery SM, Hutchinson ML, Buncic S. Evaluation of sampling methods to  
14 assess the microbiological status of cattle hides. Food Cont. 2002;13:405-410.
- 15 40. Barkocy-Gallagher GA, Arthur TM, Rivera-Betancourt M, Nou X, Shackelford SD,  
16 Wheeler TL, Koohmaraiek, M. Seasonal Prevalence of Shiga Toxin-Producing  
17 *Escherichia coli*, Including O157:H7 and Non-O157:H7 Serotypes, and *Salmonella* in  
18 Commercial Beef Processing Plants. J. Food Prot. 2003;66:1978-1986.
- 19 41. Meyer C, Thiei S, Stolle A. *Salmonella* in raw meat and by-products from pork and beef.  
20 J. Food Prot. 2010;73:1780-1784.
- 21 42. Mattila BYT, Frost AJ, O’Boile D. The growth of *Salmonella* in rumen from cattle at  
22 slaughter. *Epidem Inf.* 1988;101:337-345.
- 23 43. Moscardi-Jr E, Landraf, FM, Destro MT, Franco BDGM, Sakate RI, Nogueira-Pinto JPA.  
24 Presença de *Salmonella* spp. na cadeia produtiva da carne bovina: estudo das fontes de  
25 contaminação para novilhos criados sob confinamento experimental [dissertação].  
26 Botucatu, SP: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Higiene  
27 Veterinária e Saúde Pública, Universidade do Estado de São Paulo; 2005.
- 28 44. Andrews WH, June GA, Sherrod PS, Hammak TS, Amaguana RM. *Salmonella*. In:  
29 FOOD AND DRUG ADMINISTRATION – Bacteriological analytical manual, 8 th ed  
30 Gaithersburg: AOAC INTERNATIONAL, 1998. p.5.01-5.020.
- 31 45. Shanks OC, Kelty CA, Arquibeque S, Jenkins M, Newton RJ, McLellan SL, Huse SM,  
32 Sogin ML. Community structures of fecal bacteria in cattle from different animal feeding  
33 operations. *Appl. Environ. Microbiol.* 2011;77:2992-3001.
- 34 46. Stephens TP, Loneragan GH, Thompson TW, Sridhara A, Branham LA, Pitchiah S,  
35 Brashears MM. Distribution of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* on hide  
36 surfaces, the oral cavity, and in feces of feedlot cattle. J. Food Prot. 2007;70:1346-1349.
- 37 47. Looeper ML, Edrington TS, Flores R, Rosenkrans CF, Nihsen ME, Aiken GE.  
38 Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* in beef steers consuming  
39 different forage diets. *Appl. Microbiol.* 2006;42: 583-588.
- 40  
41  
42  
43  
44  
45

- 1 10. NORMAS PARA PUBLICAÇÃO
- 2 REVISTA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA. Disponível
- 3 em: <<http://www.fmvz.unesp.br/rvz/index.php/rvz/about/submissions#authorGuidelines>>.
- 4
- 5
- 6