

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

***Salmonella* spp. EM FRANGOS DE CORTE CRIADOS COM E  
SEM O EMPREGO DE PROMOTORES DE CRESCIMENTO:  
PREVALÊNCIA E PERFIL DE RESISTÊNCIA A  
ANTIMICROBIANOS DAS CEPAS ISOLADAS**

**DANIELA MOSSUMÉZ FERNANDES TEIXEIRA**

**BOTUCATU – SP**

**FEVEREIRO – 2006**

**DANIELA MOSSUMEZ FERNANDES TEIXEIRA**

***Salmonella* sp. EM FRANGOS DE CORTE CRIADOS COM E  
SEM O EMPREGO DE PROMOTORES DE CRESCIMENTO:  
PREVALÊNCIA E PERFIL DE RESISTÊNCIA A  
ANTIMICROBIANOS DAS CEPAS ISOLADAS**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do Título de Mestre em Medicina Veterinária, Área de Saúde Animal, Saúde Pública Veterinária e Segurança Alimentar.

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

**BOTUCATU – SP**

**FEVEREIRO – 2006**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. E TRAT. DA INFORMAÇÃO  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: **ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE**

Teixeira, Daniela Mossumez Fernandes.

*Salmonella* spp. em frangos de corte criados com e sem emprego de promotores de crescimento: prevalência e perfil de resistência a antimicrobianos das cepas isoladas / Daniela Mossumez Fernandes Teixeira.  
– Botucatu : [69 f], 2006.

Dissertação (mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2006.

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

Assunto CAPES: 50502050

1. Saúde animal. 2. Frango de corte. 3. Antibióticos. 4. *Salmonella*.

CDD 636.0894

Palavras chave: Antimicrobianos; Antibióticos; Resistência; Promotores de crescimento.

## COMPOSIÇÃO DA BANCA EXAMINADORA

**Autor: TEIXEIRA, Daniela Mossumez Fernandes**

Título: *Salmonella* spp. EM FRANGOS DE CORTE CRIADOS COM E SEM O EMPREGO DE PROMOTORES DE CRESCIMENTO: PREVALÊNCIA E PERFIL DE RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS DAS CEPAS ISOLADAS

Data: 22 de fevereiro de 2006

### **BANCA EXAMINADORA**

Prof. Ass. Dr. José Paes de A. N. Pinto Instituição: UNESP – FMVZ – Botucatu

Julgamento \_\_\_\_\_ Assinatura \_\_\_\_\_

Prof. Ass. Dr. Luciano dos S. Bersot Instituição: UFPR – campus Palotina

Julgamento \_\_\_\_\_ Assinatura \_\_\_\_\_

Prof<sup>a</sup> Ass. Dr<sup>a</sup> Vera Lúcia Mores Rall Instituição:

Julgamento \_\_\_\_\_ Assinatura \_\_\_\_\_

*Para  
meus pais, minhas irmãs, e meus  
amigos de fé, simplesmente – ou  
principalmente – por assim sê-los.*

## AGRADECIMENTOS:

*Aos meus pais, pelo incentivo constante ainda que geograficamente distantes.*

*Ao meu orientador Dr. Paes, pela boa vontade, paciência, coragem, por ter acreditado, confiado e apostado no meu objetivo. Sobretudo pelos aspectos práticos, da participação ativa em todas as fases do trabalho, como quando nas viagens ele dirigia enquanto eu.... dormia! O mais importante, porém, pela relação de amizade fortalecida no cotidiano, o que sempre torna todo o resto muito mais leve e produtivo. À sua esposa Yuri, pelas palavras de conforto sempre nas horas certas.*

*Aos meus amigos Valmir e Eliane, meus anjos da guarda visíveis e sem asas, pela amizade, carinho e atenção constantes, e por estarem sempre tentando facilitar e encurtar alguns dos desvios desta minha recente caminhada. A conclusão deste trabalho, devo indiscutivelmente também a eles.*

*A toda a equipe Biorastro, não só por terem entendido e cooperado com as minhas eventuais ausências como também por ficarem ansiosos e curiosos, “gestando” e esperando por esse “nascimento”.*

*Às minhas amigas Valéria, Kaka, Paulinha, Charli e Ana Paula, pelo abrigo nos meus circunstanciais períodos “sem-teto”, mas principalmente pelo abrigo afetivo, pelo colo e pelas longas sessões de “fala que eu te escuto!”*

*Aos amigos e colaboradores Jean, Daniel, Luiz Carlos, Cecília, Madalva, José Antônio, Leikka, pela acessibilidade, disponibilidade e boa vontade em todas as situações solicitadas.*

*Aos alunos de graduação e estagiários do Laboratório de Inspeção de Alimentos da FMVZ-UNESP- Botucatu pela participação das coletas e dos “palpites” sempre muito bem vindos.*

*Aos professores e amigos de pós-graduação e do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, em especial a amiga e funcionária Karina Amaral pela colaboração direta na organização dos materiais utilizados.*

*À Dra. Sueli Aparecida Fernandes, do Instituto Adolfo Lutz de São Paulo e ao Dr. Raphael Lúcio Andreatti Filho e suas equipes pela colaboração na realização etapas imprescindíveis do experimento.*

*Ao Professor Adalberto José Crocci pelas orientações das análises estatísticas.*

*Às Bibliotecárias Rose e Meire pela orientação de catalogação e edição para a confecção e finalização da dissertação.*

*Ao CNPq pela bolsa de estudo concedida durante um período do curso.*

*Ao SOAP – Serviço de Orientação a Alimentação Pública pelo apoio financeiro a todo o desenvolvimento do projeto.*

## RESUMO

TEIXEIRA, D.M.F. ***Salmonella* spp. em frangos de corte criados com e sem o emprego de promotores de crescimento: prevalência e perfil de resistência a antimicrobianos das cepas isoladas.** 2006. 69f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista – Botucatu.

No presente estudo foram avaliadas carcaças de frangos convencionais (originárias de aves que recebem promotores de crescimento) e alternativos (que não recebem promotores de crescimento), com o objetivo de: a) avaliar o efeito da não utilização de tais drogas sobre a prevalência de *Salmonella* spp. em frangos alternativos, comparando-a com a dos convencionais; b) determinar e comparar o perfil de resistência a antimicrobianos das cepas de *Salmonella* spp. isoladas de ambos os tipos de frangos; c) avaliar o efeito das operações de abate sobre a contaminação das carcaças, tanto em frangos convencionais quanto nos alternativos. Foram avaliadas 50 carcaças convencionais e 48 alternativas, as quais apresentaram prevalências de *Salmonella* spp. de 58% e 56,3%, respectivamente, ao longo da linha de abate. Na entrada dos frangos no abatedouro, não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) nas prevalências entre os dois grupos testados (38% nos convencionais e 47,9% nos alternativos), sendo que ao final do processamento os convencionais apresentaram 47,9% de positividade contra 14,6% dos alternativos, diferença essa significativa ( $p < 0,05$ ). *S. Enteritidis* foi o sorotipo predominante entre as cepas identificadas. Quanto ao perfil de resistência, nossos resultados mostraram que, quando observada, ela foi maior nas cepas oriundas dos frangos convencionais. Conclui-se que: a) a não utilização dos promotores de crescimento não levou a um aumento da prevalência de *Salmonella* spp. nas aves alternativas; b) as cepas oriundas de frangos alternativos revelaram uma tendência a um menor nível de resistência aos antimicrobianos testados quando comparadas às dos convencionais; c) as operações de abate, no caso das aves alternativas, foram responsáveis por uma diminuição na contaminação inicialmente observada no tocante à *Salmonella* spp, sendo que no caso das convencionais, pelo seu aumento.

## ABSTRACT

TEIXEIRA, D.M.F. ***Salmonella* spp. in broiler chickens supplemented with growth promoters: isolated strains prevalence and resistance profile to antimicrobial agents.** 2006. 69f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista – Botucatu.

Conventional chicken (receiving growth promoters) and alternative chickens (not receiving growth promoters) carcasses had been valued in the present study, with the following objectives: a) to estimate the effect of no utilization of such drugs on the prevalence of *Salmonella* spp. in alternative chicken as compared to that of the conventional ones; b) to determine and to compare the resistance profile to antimicrobial agents of *Salmonella* spp. strains isolated from both types of chickens; c) to value the effect of the slaughter operations on the carcasses contamination in conventional chickens and in alternative ones. Fifty conventional and 48 alternative carcasses had been valued, with *Salmonella* spp. prevalences of 58% and 56.3%, respectively, along the slaughter line. At the entry of the chickens in the slaughter-house there was no significant difference ( $p > 0.05$ ) in the prevalences between the two tested groups (38% in the conventional and 47,9% in the alternative), at the end of the processing the conventional presenting 47,9% of positiveness compared to 14,6% of the alternative, this difference being significant ( $p < 0,05$ ). *S. Enteritidis* was the predominant serotype among the identified strains. In relation to the resistance profile, our results showed that when it had been observed, it was larger in the strains originated from the conventional chicken. It had been concluded that: a) the removal of the growth promoters did not produce an increase in the *Salmonella* spp. prevalence in the alternative chicken; b) the strains originated from alternative chicken showed a trend toward a smaller resistance level to the tested antimicrobial agents compared to those from the conventional ones; c) the slaughter operations in the case of the alternative chickens were responsible for a decrease in the contamination initially observed regarding *Salmonella* spp. and for its increase in the case of the conventional.

**LISTA DE FIGURAS**

<b>FIGURA 01</b>	Protocolo de análise de <i>Salmonella</i> spp. nas carcaças de frangos, segundo metodologia preconizada por Andrews et al. (1998)	17
<b>FIGURA 02</b>	Prevalência de <i>Salmonella</i> sp. nos diferentes pontos de coleta (P <sub>1</sub> – após a sangria e P <sub>2</sub> – após o pré-resfriamento), em carcaças de frangos convencionais e alternativos	21
<b>FIGURA 03</b>	Contaminação por <i>Salmonella</i> sp., carcaça por carcaça, em frangos convencionais, coletadas em P <sub>1</sub> (após a sangria) e P <sub>2</sub> (após o pré-resfriamento)	23
<b>FIGURA 04</b>	Contaminação por <i>Salmonella</i> sp., carcaça por carcaça, em frangos alternativos, coletadas em P <sub>1</sub> (após a sangria) e P <sub>2</sub> (após o pré-resfriamento)	23
<b>FIGURA 05</b>	Relação entre a porcentagem de cepas resistentes e o número de antimicrobianos para frangos convencionais e frangos alternativos	29
<b>FIGURA 06</b>	Porcentagem de cepas resistentes e multirresistentes provenientes de carcaças de frangos convencionais e alternativos	30

**LISTA DE TABELAS**

<b>TABELA 01</b>	Número e porcentagem de amostras positivas e negativas para <i>Salmonella</i> spp. em carcaças de frangos convencionais coletadas em dois pontos do fluxograma de abate: após a sangria (P <sub>1</sub> ) e após o pré-resfriamento (P <sub>2</sub> )	20
<b>TABELA 02</b>	Número e porcentagem de amostras positivas e negativas para <i>Salmonella</i> spp. em carcaças de frangos alternativos coletadas em dois pontos do fluxograma de abate: após a sangria (P <sub>1</sub> ) e após o pré-resfriamento (P <sub>2</sub> )	20
<b>TABELA 03</b>	Distribuição, por ponto de coleta, dos sorotipos de <i>Salmonella</i> identificados nas carcaças de frangos convencionais	24
<b>TABELA 04</b>	Distribuição, por ponto de coleta, dos sorotipos de <i>Salmonella</i> identificados nas carcaças de frangos alternativos	25
<b>TABELA 05</b>	Número e porcentagem de cepas resistentes a cada um dos 14 diferentes tipos de antimicrobianos isoladas de frangos convencionais e frangos alternativos	26
<b>TABELA 06</b>	Número e porcentagem de cepas resistentes aos diferentes padrões de associação de antimicrobianos isoladas de frangos convencionais e frangos alternativos	27

<b>TABELA 07</b>	Número de cepas resistentes para 1 a 8 antimicrobianos em cada sorotipo de <i>Salmonella</i> identificado em frangos convencionais	31
<b>TABELA 08</b>	Número de cepas resistentes para 1 a 8 antimicrobianos em cada sorotipo de <i>Salmonella</i> identificado em frangos alternativos	31

## SUMÁRIO

RESUMO .....	i
ABSTRACT .....	ii
LISTA DE FIGURAS .....	iii
LISTA DE TABELAS .....	iv
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	3
3. OBJETIVOS .....	14
4. MATERIAL E MÉTODOS .....	15
4.1 Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp. ....	15
4.2 Sorotipagem das cepas de <i>Salmonella</i> sp. ....	18
4.3 Determinação do perfil de resistência a antimicrobianos das cepas de <i>Salmonella</i> sp. isoladas .....	18
4.4 Análise Estatística .....	19
5. RESULTADOS .....	20
5.1 Prevalência de <i>Salmonella</i> spp. ....	20
5.2 Sorotipagem das cepas de <i>Salmonella</i> sp. ....	21
5.3 Perfil de resistência a antimicrobianos das cepas de <i>Salmonella</i> sp. ....	26
6. DISCUSSÃO .....	32
6.1 Prevalência de <i>Salmonella</i> spp. ....	32
6.2 Sorotipagem das cepas de <i>Salmonella</i> sp. ....	35
6.3 Perfil de resistência a antimicrobianos das cepas de <i>Salmonella</i> isoladas .....	37
7. CONCLUSÕES .....	43
8. REFERÊNCIAS .....	44

## 1. INTRODUÇÃO

A criação intensiva de animais tem sido uma prática largamente empregada pelos países desenvolvidos e gradualmente implantada naqueles em desenvolvimento (D'SILVA, 2000). Criar sob confinamento permite reduzir trabalho, evitar perda energética e um melhor aproveitamento do espaço, além de tornar mais fácil o controle dos plantéis (Rollin, 1995 apud MACHADO FILHO & HÖTZEL, 2000). Tal sistema, largamente empregado na avicultura e suinocultura modernas, tem suprido a necessidade de uma maior produtividade de alimentos em um menor tempo para uma população que aumenta a cada dia (Rollin, 1995 apud MACHADO FILHO & HÖTZEL, 2000).

Entre as ferramentas empregadas no sistema de criação intensiva para alcançar seus objetivos, destaca-se a utilização de antimicrobianos como promotores de crescimento, não só com o intuito de aumentar a produtividade dos lotes, mas também como forma de proteger os animais quanto à ação de determinados patógenos (PALERMO NETO, 2003).

Mesmo amparada por tais justificativas, a utilização dos antimicrobianos como promotores de crescimento na criação animal, no entanto, tem sido motivo de críticas e preocupação, já que o aparecimento de bactérias altamente resistentes a variados tipos de antimicrobianos tem sido relacionado, pelo menos em parte, a essa prática. Preocupada com esta questão, a Organização Mundial de Saúde tem recomendado o controle e a restrição do uso de tais drogas na produção animal (WHO, 2000) e alguns países europeus têm implantado, já há alguns anos, programas de controles rigorosos de sua utilização, sendo que em 2006 está prevista a sua proibição por todos os países da União Européia, excetuando-se o seu emprego com fins terapêuticos (COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES, 2002).

Como resposta a essa situação, algumas alternativas têm surgido, especialmente no setor avícola, entre elas a criação do chamado frango alternativo, que se caracteriza por ser produzido sem a utilização dos antimicrobianos, além de empregar técnicas diferentes das convencionais no que se refere ao manejo das aves. Se por um lado respondeu aos anseios de parte da comunidade científica e de determinados grupos de consumidores, a

criação do frango alternativo trouxe uma nova preocupação à tona: qual seria o impacto que a não utilização dos antimicrobianos como promotores de crescimento sobre as contaminações por *Salmonella* nas aves assim criadas? Qual seria o potencial desses animais como veículos de transmissão do patógeno ao homem? São poucas as pesquisas realizadas que procuram estudar esta questão, sendo que no Brasil especificamente, o maior produtor mundial de aves de corte e onde já ocorre a criação do frango alternativo, elas não existem.

Outro ponto importante relacionado a essa questão refere-se ao perfil de resistência a antimicrobianos das cepas de *Salmonella* isoladas a partir de aves criadas nesse novo sistema: haveria uma diminuição da resistência, já que os animais não estariam expostos a estas drogas durante a sua vida produtiva?

Paralelamente a essas questões, um terceiro caso vem à tona para discussão: qual o papel que as operações de abate das aves terão sobre a contaminação por *Salmonella* nas carcaças de frangos “alternativos” e frangos criados sob condições convencionais, isto é, sem e com a utilização de promotores de crescimento, respectivamente. Pode-se hipotetizar que as taxas de prevalência do patógeno em qualquer um dos tipos de animais que chegam para o abate possam se alterar como resultado das condições higiênico-sanitárias em que o mesmo é efetuado, ou seja, diminuir, manterem-se ou aumentarem. Ocorrendo um aumento, qualquer benefício resultante de práticas empregadas para produção de animais que albergassem um número pequeno ou mesmo nenhum organismo resistente a antimicrobianos estaria minimizado ou perdido, tendo em vista a utilização de medidas de controle inadequadas para limitar a contaminação bacteriana cruzada durante o abate e processamento (LE JUNE & CHRISTIE, 2004).

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

As enfermidades transmitidas por alimentos (ETA) constituem hoje uma enorme preocupação dentro do campo da saúde pública, sendo que nos países com sistemas de vigilância bem estruturados tem-se observado um grande aumento em sua incidência (SHARP & REILLY, 1994). Este aumento pode ser influenciado por vários fatores, o que dificulta o seu controle pelas autoridades sanitárias. A criação intensiva dos animais de produção é um deles (MOTARJEMI & KÄFERSTEIN, 1999).

Amplamente empregado na avicultura e suinocultura modernas, tal sistema vem suprir a necessidade de maior produtividade em menor tempo, para uma população mundial que cresce a cada dia. Enquanto que em 1940 um produtor norte-americano produzia alimento para 11 pessoas, em 1990, através da modernização da produção, este número subiu para 80. Isto revela um significativo aumento na produtividade animal, basicamente associado a três fatores: melhoramento genético, nutrição e industrialização de processos (Rollin apud MACHADO FILHO & HÖTZEL, 2000).

Se por um lado o processo de confinamento foi um dos responsáveis pelo aumento na produtividade, gerando carne suficiente para suprir a demanda mundial, ele possui, ao mesmo tempo, alguns inconvenientes, especialmente àqueles relacionados ao comportamento, bem-estar animal, poluição ambiental e disseminação de patógenos (D'SILVA, 2000).

No que se refere aos patógenos veiculados, destaca-se *Salmonella*. Cabe salientar que embora nas últimas décadas algumas bactérias venham chamando atenção e sendo reconhecidas como patógenos emergentes responsáveis por algumas enfermidades importantes (DOYLE, 1994), *Salmonella* spp. continua a ser um dos principais agentes etiológicos das ETA (FOODNET, 2005)

A preocupação com estas enfermidades é ainda maior quando se verifica o aparecimento de bactérias, entre elas *Salmonella*, resistentes a diferentes tipos de antimicrobianos. Segundo alguns autores, esta maior resistência bacteriana pode resultar no aumento das ETA, bem como no

número de falhas quando do tratamento clínico das infecções, ou seja, uma maior ineficiência terapêutica de tais drogas (WINOKUR et al., 2001; ANDERSON et al., 2003).

No contexto veterinário, os antimicrobianos podem ser utilizados para diferentes propósitos além do fim terapêutico: profilaxia, metafilaxia e como promotores de crescimento. O tratamento profilático é usado para prevenir antecipadamente a doença, e, isso geralmente dá-se por uma administração massal da droga. Do mesmo modo, na metafilaxia a administração também se dá de forma massal, mas para tratar doença incipiente em indivíduos e para prevenir eventuais surtos no grupo. Finalmente, antimicrobianos podem ser usados em baixas concentrações para aumentar a taxa de crescimento e para otimizar a conversão alimentar para a criação de animais de produção. (SNARY et al., 2004). Segundo Singer et al. (2003), há evidências consideráveis de que o emprego de tais drogas, seja como promotores de crescimento ou na profilaxia e tratamento de enfermidades em animais, aumenta a prevalência da resistência antimicrobiana em patógenos humanos, como se tem verificado para alguns sorotipos de *Salmonella*.

De acordo com essa hipótese, uma vez que a maioria das ETA é adquirida por ingestão de alimentos de origem animal contaminados, o uso indiscriminado daquelas substâncias na produção como promotores de crescimento seria uma provável causa da seleção e do aumento da prevalência de cepas de *Salmonella* e outras bactérias resistentes aos antimicrobianos verificado nos últimos anos (VAN DEN BOGAARD & STOBBERINGH. 1999; ANGULO et al., 2000; SILVA & DUARTE, 2002).

Segundo Palermo Neto (2003), o antimicrobiano presente na ração de animais, como frangos de corte ou galinhas de postura pode, ao alcançar os intestinos dos mesmos, inibir o crescimento ou destruir algumas bactérias como os estreptococos, estafilococos e enterococos a eles sensíveis, selecionando outros resistentes. Estes, uma vez livres de competição com os sensíveis poderiam ao menos em tese, alcançar o ser humano através de um alimento contaminado causando, possivelmente, uma infecção de difícil tratamento. No entanto, uma vez que os antimicrobianos usados como aditivos não atuam preferentemente contra microrganismos Gram negativos como

*Salmonella*, *Escherichia* e *Campylobacter* é mais difícil pensar na indução de formas de resistência através do contato com estes medicamentos.

No entanto a idéia de que o emprego de antimicrobianos como promotores de crescimento na produção primária teria como efeito indesejável a seleção de microrganismos resistentes a estas drogas, não é uma unanimidade dentro da comunidade científica.

Por outro lado, há um princípio básico da microbiologia: o tratamento antimicrobiano da população *in vitro* ou *in vivo* seleciona células com resistência tanto intrínseca como adquirida a drogas antimicrobianas. Sob uma dose contínua desses compostos, uma subpopulação resistente de células pode continuar dividindo-se e eventualmente alcançar a bactéria susceptível, assim diminuindo a plausibilidade do tratamento. Mesmo em infecções que são clinicamente curáveis, bactérias resistentes podem ser mantidas ou desprendidas por indivíduos infectados e podem contribuir para reservatórios de bactérias resistentes na população (CLAYCAMP & HOBERMAN, 2004).

Bactérias resistentes também poderiam servir como um reservatório para genes de resistência bacteriana subseqüentemente transferidos para organismos patógenos ou comensais dentro do hospedeiro humano (WINOKUR et al., 2001 ; CLAYCAMP & HOBERMAN, 2004).

Alguns pesquisadores são taxativos em condenar a utilização destas drogas na alimentação animal. Para eles, o emprego de antimicrobianos como promotores de crescimento configura um problema de saúde pública sério. No caso dos plantéis avícolas, o aparecimento de cepas de *Salmonella* resistentes a antimicrobianos ganha um papel de destaque, visto que as carnes de aves são as mais importantes na transmissão deste agente (TAUXE, 1991), já que a maioria dos sorotipos encontrados nas mesmas podem ser propagados a outras espécies animais, inclusive ao homem, com relativa facilidade (MORSE & DUNCAN 1974).

Segundo essa linha de raciocínio, patógenos humanos e bactérias resistentes poderiam ser transmitidos entre os humanos, animais e outros ecossistemas, via contato com animais ou pela cadeia alimentar, através do consumo de alimentos ou água contaminados resultando em infecções resistentes (KELLEY et al., 1998; VAN DEN BOGAARD & STOBBERINGH, 2000; ANDERSON et al., 2003).

Levantamentos realizados em vários países têm mostrado que 30 a 50% das carcaças de frangos congeladas ou refrigeradas estão contaminadas por *Salmonella* sp. (SILVA, 1998).

A contaminação das aves pode ocorrer já na nas granjas, ou nas diversas etapas posteriores de produção industrial, distribuição, comercialização e consumo, através da chamada contaminação cruzada (BAIRD-PARKER, 1990). As aves de criação industrial contaminam-se por *Salmonella* sp., geralmente, pela transmissão vertical via ovo ou, no seu ambiente de criação, via ração, roedores e outros animais. A presença de *Salmonella* sp. na ração, farinha de carne, de pena ou vísceras, secreções de roedores, insetos e na cama do aviário, aumenta e sustenta índices de contaminação cada vez maiores nos plantéis avícolas (ÁVILA et al., 1972; HACKING et al., 1978; BERCHIERI JÚNIOR et al., 1984, 1989; HENZLER & OPITZ, 1992; BERCHIERI JÚNIOR et al., 1993; KOPANIC JÚNIOR et al., 1994; DAVIES & WRAY, 1995; VELDMAN et al., 1995).

Dentro do gênero *Salmonella* podemos encontrar diferentes sorovares, podendo acarretar tanto a salmonelose aviária quanto a humana, quando da ingestão de produtos avícolas contaminados (ANDREATTI FILHO et al., 2001).

A salmonelose aviária é o termo que designa um grupo de doenças aviárias agudas ou crônicas, sendo causadas por um ou mais sorotipos do gênero *Salmonella*, tendo numa das faces os quadros graves que implicam na maioria das vezes na eliminação dos lotes infectados, caso da pulorose e do tifo aviário (causadas respectivamente por sorovares hospedeiro-específicos *S. Pullorum* e *S. Gallinarum*). Entretanto, o grande enigma desta zoonose reside na outra face, e rotulada em patologia aviária como infecções paratíficas, cuja forma clínica quase sempre é inaparente e determinada pelos mais de 2300 sorovares restantes do gênero, especialmente *S. Enteritidis* que, nas duas últimas décadas, é o sorovar responsável pelo maior número de surtos da enfermidade em humanos (HOFER et al., 1997; ANDREATTI FILHO et al., 2001).

Esta é uma das zoonoses mais problemáticas para a saúde pública em todo o mundo, em razão da elevada endemicidade, alta morbidade e acima de tudo, pela dificuldade no controle. Este desafio resulta do extraordinário número de fontes de infecção, envolvendo praticamente todo o escalão

filogenético dos vertebrados, alguns dos quais, fonte de proteína animal para os humanos (HOFER & REIS, 1994).

A salmonelose paratifóide em humanos é usualmente uma doença auto-limitada confinada ao trato gastrointestinal. Agentes antimicrobianos são em geral usados empiricamente, mas quando a infecção dissemina além do intestino ou quando pessoas imunocomprometidas são afetadas, torna-se essencial um tratamento antimicrobiano efetivo. Este, entretanto, para casos que necessitem, pode ter suas opções terapêuticas limitadas devido ao aumento na resistência antimicrobiana da *Salmonella* (ÂNGULO et al., 2000; CRUCHAGA et al., 2001).

Levantamento realizado em nosso país com cepas de *Salmonella* Enteritidis (SE), principal sorotipo encontrado em aves e responsável pela maioria dos casos de salmonelose humana no Brasil segundo dados do Instituto Adolfo Lutz (TAVECHIO et al., 1996), revelou inicialmente que as mesmas apresentavam alta sensibilidade aos antimicrobianos testados. Os resultados dos testes realizados com 282 cepas de SE isoladas de aves, suínos, rações, alimentos e fontes humanas (período de 1995 a 1996) revelaram baixa resistência (NUNES, 1999).

Dados mais recentes causam maior preocupação: ao analisar-se o perfil de resistência de 195 cepas de SE de origem humana e não humana, isoladas entre 1995 e 1999, frente a 19 agentes antimicrobianos, observou-se resistência em 63,5% das cepas. Embora a maioria fosse resistente a 1 ou 2 antimicrobianos, detectou-se resistência para 3 ou até 7 deles, principalmente nas amostras de origem humana (TAVECHIO et al., 1999). Alguns pesquisadores, como SILVA & DUARTE, (2002), inclusive, têm revelado uma grande preocupação em relação a essa questão, já que têm observado no Brasil uma crescente e assustadora resistência das enterobactérias a alguns quimioterápicos testados.

O uso dos agentes antimicrobianos na ração animal que têm um análogo humano aumenta a probabilidade dos patógenos bacterianos presentes nesta desenvolverem resistência cruzada aos agentes antimicrobianos usados na medicina humana, o que leva a significantes implicações na saúde pública. Assim, atenção dever ser dada às fluoroquinolonas e cefalosporinas de terceira geração, uma vez que são administradas no tratamento de infecções por

*Salmonella* e *Campylobacter*. As cefalosporinas de terceira geração como ceftriaxone, são comumente usadas para infecções humanas invasivas de *Salmonella* em crianças por causa de suas propriedades farmacodinâmicas e baixa prevalência de resistência a esses agentes (ANDERSON et al., 2003). Já as fluoroquinolonas (por exemplo, enrofloxacin), são os agentes antimicrobianos mais comumente empregados para o tratamento de infecções invasivas por *Salmonella* em adultos e prescritas nas práticas gerais de gastroenterites humanas (PIDDOCK, 1998; ÂNGULO et al., 2000).

Em termos gerais, portanto, não há como negar que a utilização de drogas antimicrobianas tem desempenhado um importante papel na produção animal, as quais têm sido adicionadas na alimentação de rebanhos e de aves desde o início dos anos 50 para tratar infecções, e, em maior parte para aumentar a eficiência alimentar e de crescimento. Isto resulta freqüentemente na exposição de um grande número de animais independentemente de seu estado de saúde, a concentrações subterapêuticas de antimicrobianos (DUPONT & STEELE, 1987; FRANCO et al., 1990; ANDERSON et al., 2003). Estima-se que aproximadamente 90% de todos os agentes antimicrobianos usados em alimento animal estejam sob esse enfoque (LEE et al., 1993).

Preocupada com esta questão, a Organização Mundial de Saúde tem recomendado o controle e a restrição do uso de antimicrobianos na produção animal (WHO, 2000), pois o uso apropriado destes agentes nos humanos e na ração animal é necessário para manter sua eficiência e reduzir o potencial de disseminação de organismos resistentes (ANDERSON et al., 2003)

Segundo Witte (1998), a redução do uso de antimicrobianos na produção animal é uma maneira de minimizar o problema da resistência antimicrobiana. Antimicrobianos como promotores de crescimento podem ser retirados gradualmente e benefícios similares podem ser obtidos através da melhora de outros aspectos no manejo animal, tais como a higiene na produção.

O uso de agentes antimicrobianos nos animais tem sido o assunto de muita discussão e críticas nos últimos anos, com a produção de compostos usados excedendo o uso na medicina humana (HUNTER & REEVES, 2002).

Há que se ressaltar que em muitos países a quantidade de agentes antimicrobianos utilizados na criação animal quando comparada àquela

empregada na terapêutica humana, tem diminuído nas últimas décadas, especialmente a parcela empregada como promotores de crescimento. Atualmente a maior parte empregada em animais destina-se à prevenção de doenças e tratamento, mas há ainda uma necessidade de reduzir esse uso tanto quanto possível (HUNTER E REEVES, 2002).

Nos Estados Unidos, pelo menos 17 classes de antimicrobianos são aprovados como promotores de crescimento e eficiência alimentar, incluindo tetraciclina, penicilinas, macrolídeos, lincomicina, e virginiamicina (ANDERSON et al., 2003), sendo que em 2000 aproximadamente 8 milhões de toneladas foram vendidas somente para uso animal.

Na União Européia o uso de diversos antimicrobianos como promotores de crescimento animal tem sido proibido desde o final dos anos noventa (PRESCOTT et al., 2000), proibição esta embasada em questões relacionadas a dois fatos principais. Por um lado, as autoridades européias, alegando que há muita incerteza na questão de inocuidade do uso destes produtos, principalmente no tocante aos resultados pertinentes ao desenvolvimento de resistência bacteriana (*risk assesment*), resolveram adotar o chamado “princípio de precaução” ao fazer o gerenciamento do risco ligado ao uso dos antimicrobianos como aditivos (*risk management*). Assim, ela baniu o uso de algumas destas drogas como aditivos promotores de crescimento. Por outro lado, e talvez mais importante, as autoridades têm sofrido forte pressão por parte de uma parcela cada vez maior de consumidores europeus para que o banimento total seja decretado (BAGER et al., 1999; AARESTRUP et al., 2000; WITTE et al., 2000; WIERUP, 2001; PALERMO NETO, 2003).

Segundo Wierup (2001), foram várias as forças que lutaram por essas proibições, englobando interesses políticos e de consumidores, bem como da comunidade científica, preocupada com o fato de que a resistência observada em cepas bacterianas isoladas de animais pudesse ser transmitida para humanos, com prejuízo à saúde.

Suécia e Dinamarca foram os primeiros países a estabelecerem programas de controle de uso de antimicrobianos na produção animal. Em 1996, a Suécia os eliminou e, em 1998, a Dinamarca limitou o uso desses compostos como promotores de crescimento. Implementaram também medidas relacionadas à comercialização desses produtos, através da redução de seu

uso na produção animal e de um sistema de monitoramento da resistência microbiana, o qual gerou informações importantes. Através desse trabalho de monitoramento pode-se concluir que a redução do uso de antimicrobianos como promotores de crescimento propiciou a diminuição da resistência microbiana aos produtos controlados, sendo que os testes foram realizados com bactérias isoladas tanto de animais vivos quanto da carne obtida a partir dos mesmos (BAGER & EMBORG, 2001).

Paralelamente à restrição/proibição dos promotores de crescimento nesses dois países, a União Européia proibiu o uso da avoparcina em 1997 e os quatro antibióticos remanescentes usados para promoção de crescimento em 1998. Estes quatro antibióticos eram bacitracina de zinco (um polipeptídeo), espiramicina e tilosina (macrolídeos) e virginiamicina, devido à presença em suas moléculas de estruturas relacionadas aos agentes antimicrobianos usados na medicina humana (COMMISSION REGULATION OF AMENDING COUNCIL DIRECTIVE 70/524/EEC, 1998)

Segundo Wierup (2001), a não utilização dos agentes antimicrobianos como promotores de crescimento nesses países europeus tem refletido conseqüências adversas na saúde e bem estar animal, bem como econômicas para produtores desses países. Apesar disso, tem-se observado uma diminuição na resistência aos antimicrobianos em cepas isoladas de animais, produtos alimentares e do homem (BAGER et al., 1999; KLARE et al., 1999; PANTOSTI et al., 1999; VAN DEN BOGAARD et al., 2000; AARESTRUP et al., 2001, BARGER & EMBORG, 2001).

Neste contexto, ainda que paradoxal, é importante relatar que o banimento pela Suécia e Dinamarca do uso de antimicrobianos como aditivos em avicultura está ocasionando um aumento do consumo dos mesmos nestes países, agora na forma de medicação terapêutica destinada ao tratamento de processos infecciosos instalados, principalmente no trato gastrointestinal (TGI) das aves. (PALERMO NETO, 2003) Houve um aumento de 7 toneladas para suínos, 13 toneladas para aves e 37 toneladas de terapêuticos autorizados para mais do que uma espécie. Embora originalmente aprovados para uso como promotores de crescimento, a súbita retirada desses antimicrobianos revelou que essas drogas também possuíam efeito sobre a saúde animal,

atuando na profilaxia de importantes infecções alimentares animais (CASEWELL et al., 2003).

A preocupação com a utilização de antimicrobianos como promotores de crescimento pelo aparecimento de cepas resistentes a essas substâncias, tem provocado reações em vários países, com a adoção de medidas muito mais rigorosas do que aquelas tomadas no Brasil, que se limitou a listar e proibir a utilização de determinados quimioterápicos.

Desta maneira, a Instrução Normativa nº 9, de 27 de junho de 2003 (BRASIL, 2003(a)) proíbe a fabricação, a manipulação, o fracionamento, a comercialização, a importação e o uso dos princípios ativos cloranfenicol e nitrofuranos e produtos que contenham estes princípios ativos, para uso veterinário e suscetível de emprego na alimentação de todos os animais e insetos. A portaria nº 31, de 29 de janeiro de 2002 (BRASIL, 2002) determina o cancelamento dos registros, na área de alimentos para animais, de todos produtos formulados com princípios ativos à base de arsenicais e antimoniais.

O uso de clortetraciclina, oxitetraciclina, penicilinas e sulfonamidas sistêmicas para alimentação animal, no Brasil, também está proibido de acordo com a Portaria Ministerial nº 193, de 12 de maio de 1998 (BRASIL, 1998). Já a Instrução Normativa nº 11, de 24 de novembro de 2004 (BRASIL, 2004) proíbe a fabricação, a importação, a comercialização e o uso da substância química denominada olaquinox, como aditivo promotor de crescimento em animais produtores de alimentos.

Paralelamente à limitação legal do uso de antimicrobianos, tem-se observado em alguns países o aparecimento de unidades produtoras que não utilizam essas drogas em rações animais como promotores de crescimento. Este novo conceito de produção, além das questões técnico-científicas envolvidas, também vem atender à crescente demanda por parte dos consumidores, que valorizam produtos de qualidade diferenciada e demonstram preocupações com segurança alimentar, rastreabilidade dos produtos, meio ambiente e bem-estar animal, entre outros fatores.

No Brasil, esse conceito deu origem ao chamado frango alternativo, que se caracteriza por ser uma ave alojada em granjas, sem que tenha havido uma modificação do modelo de produção industrial estabelecido em nosso país, apresentando-se segundo seus idealizadores, como uma evolução do mesmo,

obtida através da utilização de soluções mais naturais no manejo (AVAL, 2003).

A produção de aves sem o emprego de promotores de crescimento suscita, no entanto, algumas questões importantes, que merecem ser estudadas: a) qual o efeito desta retirada sobre a prevalência de *Salmonella* spp. nos animais produzidos nessas condições? b) haveria alguma alteração no perfil de resistência a antimicrobianos das cepas de *Salmonella* isoladas a partir dessas aves?

Levantamento mais abrangente realizado na Dinamarca mostra, inclusive, que houve uma diminuição significativa na prevalência de *Salmonella* spp. após a retirada dos antimicrobianos, passando de 14,4% para 2,4%, testes realizados em plantéis e em carcaças de animais abatidos. No entanto, os autores admitem que outras ações, além da retirada dos promotores de crescimento, podem ter contribuído para essa diminuição. De qualquer forma, os resultados podem ser considerados auspiciosos segundo Evans & Wegener (2003).

Quanto à segunda questão, são poucos os dados disponíveis, embora a proibição no uso de agentes antimicrobianos para promoção de crescimento na ração de animais de produção esteja associada a um declínio de organismos resistentes a antimicrobianos nos animais vivos (HUNTER & REEVES, 2002; WEGENER, 2003).

Sendo assim, torna-se importante realizar um estudo em nosso país, enfocando as seguintes questões: qual o reflexo da não utilização de antimicrobianos em aves criadas sob nossas condições de manejo? Qual o perfil de resistência das cepas isoladas provenientes desse sistema?

Outro ponto importante a ser estudado refere-se ao papel que as operações de abate terão sobre a prevalência do patógenos no produto ao final do processo. Atualmente, sabe-se que elas são muito importantes na disseminação de vários microrganismos entre as carcaças, já que existem vários pontos críticos que permitem a contaminação das mesmas durante o processo industrial (BRYAN & DOYLE, 1995).

Saliente-se que a maioria dos contaminantes não necessariamente tem origem diretamente do trato intestinal do animal do qual a carcaça é derivada, já que a contaminação cruzada bacteriana a partir de outras carcaças sendo

processadas, aerossóis na planta e equipamento de processamento contribuem significativamente para a disseminação de bactérias de um corte de carne para outro (BANATVALA et al., 1996; GILL et al., 1999)

Deste modo, é previsível que ocorra uma disseminação dos microrganismos e, mais adiante, a permanência ou mesmo aumento desses enteropatógenos ao final das etapas do processo de abate (SHACKELFORD, 1988; LILLARD, 1990).

Nesse sentido, é importante estudar o papel que essas operações terão sobre a contaminação por *Salmonella* nas carcaças de frangos alternativos e frangos criados sob condições convencionais, isto é, sem e com a utilização de promotores de crescimento, respectivamente. Pode-se hipotetizar que as taxas de prevalência do patógeno em qualquer um dos tipos de animais que chegam para o abate possam vir a se alterar como resultado das condições higiênico-sanitárias em que o mesmo é efetuado, ou seja, diminuir, manterem-se ou aumentarem.

Além do mais, a manipulação imprópria dos produtos crus em casa pode resultar na contaminação do ambiente e de outros alimentos a partir das carcaças contaminadas. Assim, a presença de contaminantes bacterianos na carne crua representa uma ameaça real e significativa a saúde dos consumidores. Qualquer benefício para produzir animais que alberguem um número pequeno ou mesmo nenhum organismo resistente a antimicrobianos será perdido se medidas de controle inadequadas para limitar a contaminação bacteriana cruzada durante o abate e processamento não forem adequadas (LE JUNE & CHRISTIE, 2004).

Cabe ressaltar que não existe nenhum estudo no Brasil sobre a prevalência de *Salmonella* em frangos alternativos, bem como o perfil de resistência a antimicrobianos das cepas isoladas a partir de aves criadas nessas condições.

### 3. OBJETIVOS

O trabalho tem como objetivos:

- a) avaliar o efeito da não utilização dos promotores de crescimento sobre a prevalência de *Salmonella* spp. em frangos alternativos, comparando-a com a dos convencionais
- b) determinar e comparar o perfil de resistência a antimicrobianos das cepas de *Salmonella* spp. isoladas de frangos alternativos e convencionais
- c) avaliar o efeito das operações de abate sobre a prevalência de *Salmonella* spp. em frangos alternativos e convencionais

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização do experimento foram coletadas amostras de dois abatedouros mantidos sob Inspeção Federal, ambos localizados no interior do Estado de São Paulo, produzindo um deles frango convencional e o outro frango alternativo.

As coletas foram realizadas em dois diferentes pontos do fluxograma de abate: após a sangria da ave ( $P_1$ ), e após a etapa de pré-resfriamento em *chiller* ( $P_2$ ). Os grupos experimentais de frangos convencionais e alternativos foram compostos por 50 e 48 carcaças, respectivamente.

### 4.1 Pesquisa de *Salmonella* spp.

Cada carcaça foi retirada da nória, transferida para um saco plástico estéril e submetida a um processo de enxágüe por três minutos, realizado com 300mL de água peptonada tamponada a 1% estéril. Terminado o enxágüe, as carcaças foram retiradas do saco plástico, identificadas e devolvidas à nória, para serem novamente amostradas em  $P_2$ .

Os sacos plásticos contendo o líquido de enxágüe foram acondicionados em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável e transportados até o laboratório para a realização das análises.

A pesquisa de *Salmonella* sp. foi realizada segundo a metodologia preconizada por Andrews et al. (1998). A análise foi desenvolvida no laboratório de pesquisa da disciplina de Inspeção Sanitária de Alimentos de Origem Animal, do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, campus de Botucatu, compreendendo as seguintes etapas descritas abaixo e visualizadas na Figura 01:

**pré-enriquecimento:** o líquido de enxágüe de cada carcaça foi incubado a 35°C por 18-24h.

**enriquecimento seletivo:** 0,1 mL e 1 mL do líquido de enxágüe pré-enriquecido foram transferidos para tubos de ensaio contendo 10 mL de caldo Rappaport-Vassiliadis (RV) e Tetracionato (TT) respectivamente, tendo sido a

incubação realizada a 42°C (RV) e 43°C (TT), por 18 – 24h.

**plaqueamento seletivo:** os caldos de enriquecimento seletivo foram semeados, com alça de níquel-cromo, na superfície de placas contendo ágar Bismuto de Sulfito (BS) e ágar Xilose-Lisina-Desoxicolato (XLD), com incubação a 35°C por 18-24h.

**identificação bioquímica:** as colônias características de *Salmonella* sp. foram repicadas para os ágars TSI (Triple Sugar Iron) e LIA (Lisina Iron Agar), sendo os mesmos incubados a 35°C por 18 – 24h. Realizaram-se ainda os seguintes testes bioquímicos: produção de indol, reação de Vermelho de Metila e de Voges-Proskauer, utilização de citrato, produção de urease, utilização de glicose e lactose, observação do movimento e produção de fenilalanina desaminase.

**soroaglutinação:** foi realizada empregando-se anti-soro polivalente flagelar e somático (PROBAC).

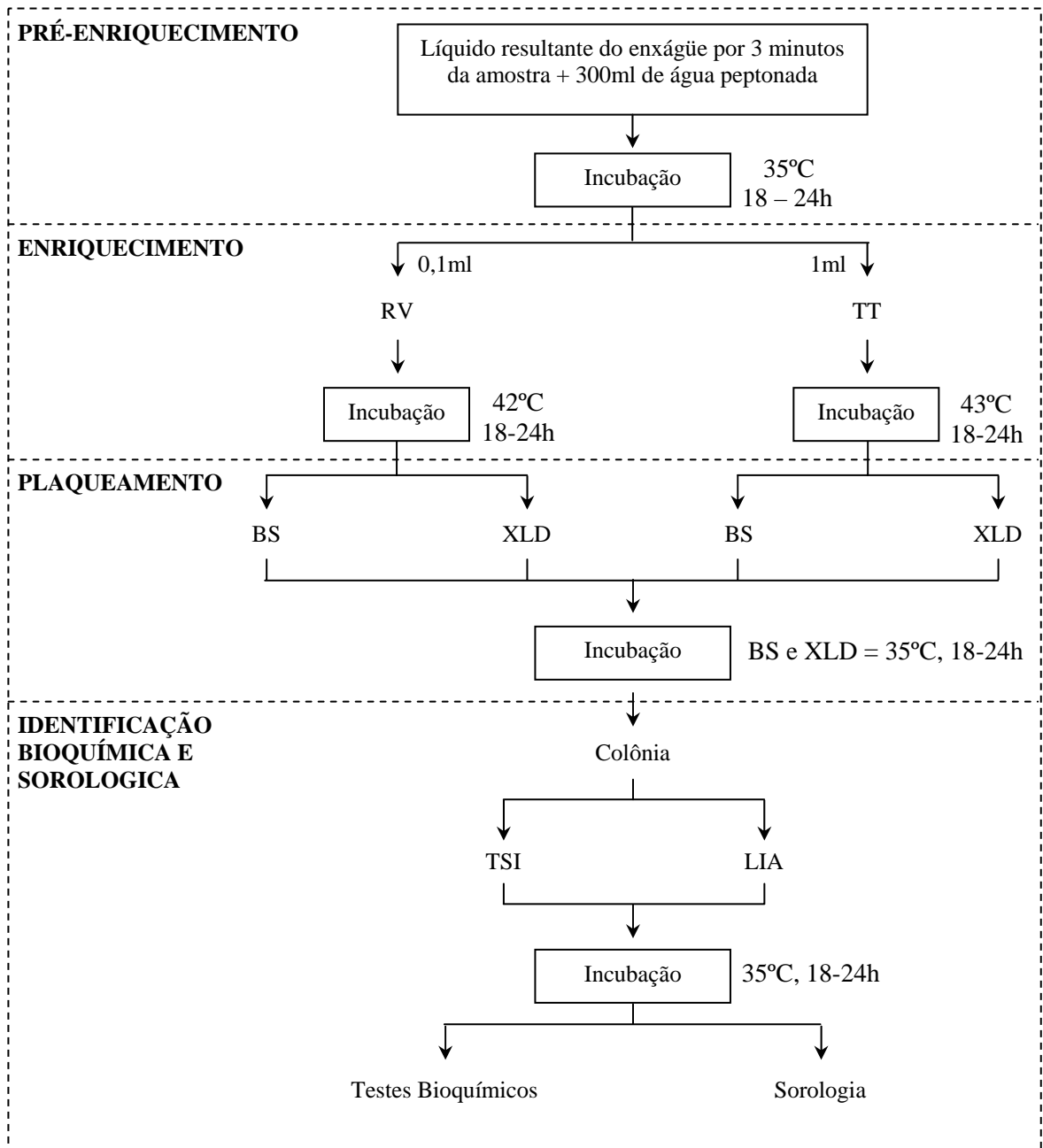


Figura 1 – Protocolo de análise de *Salmonella* spp. nas carcaças de frangos, segundo metodologia preconizada por Andrews et al. (1998).

Onde: RV = Rappaport – Vassiliadis; TT = Tetrionato; BS = Ágar Bismuto Sulfito; XLD = Ágar Xilose-Lisina-Desoxicolato, TSI = Triple Sugar Iron; LIA = Lisina Iron Ágar.

#### 4.2 Sorotipagem das cepas de *Salmonella* sp.

As cepas identificadas como *Salmonella* sp. foram enviadas ao Instituto Adolfo Lutz, SP, para sorotipagem das mesmas.

#### 4.3 Determinação do perfil de resistência a antimicrobianos das cepas de *Salmonella* sp. isoladas

As cepas de *Salmonella* sp. sorotipadas a partir daquelas isoladas dos dois grupos experimentais em P<sub>1</sub> (após a sangria) foram submetidas ao teste de sensibilidade microbiana frente a quatorze antimicrobianos: ácido nalidíxico [30mcg], sulfonamida [300 mcg], gentamicina [10mcg] , neomicina [30mcg], trimetoprim [5mcg], estreptomicina [10mcg], cloranfenicol [30mcg], enrofloxacina [5mcg] , cefaclor [30mcg], ciprofloxacina [5mcg] , ampicilina [10mcg], tetraciclina [30mcg], tobramicina [10mcg] e amicacina [30mcg] .

O antibiograma foi realizado através do método de difusão em placa, o qual foi proposto pela primeira vez por Bauer et al. (1966) e hoje denominado de método de Kirby-Bauer.

A análise supracitada foi realizada no Laboratório de Ornitopatologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, campus de Botucatu, tendo sido seguidas as seguintes etapas:

As cepas de *Salmonella* isoladas e sorotipadas foram repicadas em frascos contendo ágar estoque (0,5g de extrato de carne + 1,5 de água de peptona + 1,5g de agar em 100 mL de água destilada) e incubadas a 35<sup>o</sup> C / 24h para armazenagem e manutenção adequadas das mesmas.

Quando da realização do teste, cada cepa foi transferida do ágar estoque para ágar AVB (ágar verde brilhante) em placa e incubada a 37<sup>o</sup> C / 24h a fim de reativá-las.

Transcorrido o período de 24h, foram selecionadas 4 a 5 colônias de cada placa e então repicadas para tubos contendo 5 mL de caldo Müeller-Hinton cada um. Estes foram incubados a 35<sup>o</sup> C / 2 a 8h até que o crescimento do microrganismo fosse observado através da turbidez padrão, correspondente a 0,5 na escala MacFarland.

A partir dos caldos cultivados, uma semeadura de superfície foi realizada em ágar Müller-Hinton distribuído em placas, previamente preparado. Essa transferência foi feita através de uma zaragatoa estéril, a qual foi introduzida no tubo contendo o caldo, realizando-se então a semeadura por toda a superfície do ágar. Um intervalo de tempo de 3 a 5 minutos foi aguardado para uma completa absorção do excesso de umidade na superfície do ágar.

Após a absorção da umidade, os discos de antibióticos foram levemente pressionados sobre o ágar, com o auxílio de uma pinça estéril, para que fossem bem aderidos ao meio. Entre os discos foi mantida uma distância média de 24 mm de centro a centro.

Distribuídos todos os discos de antibióticos, as placas foram invertidas e incubadas a 35<sup>o</sup> C /16 a 18h.

Assim, a leitura foi feita medindo-se o diâmetro da zona de inibição incluindo o diâmetro do disco. O limite final da zona de inibição foi considerado quando nenhum crescimento visível a olho nu foi mais observado.

Os diâmetros das zonas de inibição registrados foram então comparados com padrões de referência específicos para cada droga testada.

Todos os meios de cultura utilizados, inclusive aqueles para a formulação do ágar estoque, foram da marca DIFCO.

#### **4.4 Análise Estatística**

As prevalências de *Salmonella* observadas para os frangos “convencionais” e “alternativos” foram comparadas entre si nos pontos P<sub>1</sub> e P<sub>2</sub>, tendo sido empregado o teste de Qui - quadrado, com  $p < 0,05$  (COCHRAN & COX, 1957).

No tocante ao número de cepas multiresistentes, isto é, aquelas que apresentaram resistência a 4 ou mais diferentes antimicrobianos, também foi feita a comparação para os dois tipos de aves, tendo sido igualmente empregado o teste de Qui-quadrado, com  $p < 0,05$ .

## 5. RESULTADOS

### 5.1 Prevalência de *Salmonella* spp.

A prevalência de *Salmonella* spp. nos frangos convencionais foi de 38% no início da linha de abate, logo após a sangria (P<sub>1</sub>) e 42% no final do processamento, após a etapa de pré-resfriamento (P<sub>2</sub>), conforme pode ser observado na Tabela 01 e na Figura 02. No tocante aos frangos alternativos, ela foi de 47,9% e 14,6% no início (P<sub>1</sub>) e no final do processamento (P<sub>2</sub>), respectivamente, observado na Tabela 02 e na Figura 02.

TABELA 01 – Número e porcentagem de amostras positivas e negativas para *Salmonella* spp. em carcaças de frangos convencionais coletadas em dois pontos do fluxograma de abate: após a sangria (P<sub>1</sub>) e após o pré-resfriamento (P<sub>2</sub>).

P <sub>2</sub> \ P <sub>1</sub>	(+)	(-)	Total
(+)	11 (22,0%)	10 (20,0%)	21 (42,0%)
(-)	08 (16,0%)	21 (42,0%)	29 (58,0%)
Total (%)	19 (38,0%)	31 (62,0%)	50 (100,0%)

TABELA 02 – Número e porcentagem de amostras positivas e negativas para *Salmonella* spp. em carcaças de frangos alternativos coletadas em dois pontos do fluxograma de abate: após a sangria (P<sub>1</sub>) e após o pré-resfriamento (P<sub>2</sub>).

P <sub>2</sub> \ P <sub>1</sub>	(+)	(-)	Total
(+)	03 ( 6,2%)	04 ( 8,3%)	07 (14,6%)
(-)	20 (41,7%)	21 (43,7%)	41 (85,4%)
Total	23 (47,9%)	25 (52,1%)	48(100,0%)

Ao se analisar as prevalências de *Salmonella* sp. nos diferentes pontos de coleta ( $P_1$  e  $P_2$ ) para os frangos convencionais e alternativos (Figura 02), não se observou uma diferença estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ) em  $P_1$ . Já em  $P_2$ , ao contrário, o número de amostras positivas para o patógeno foi significativamente maior nas carcaças provenientes de aves submetidas ao manejo convencional quando comparadas às alternativas ( $p < 0,05$ ).

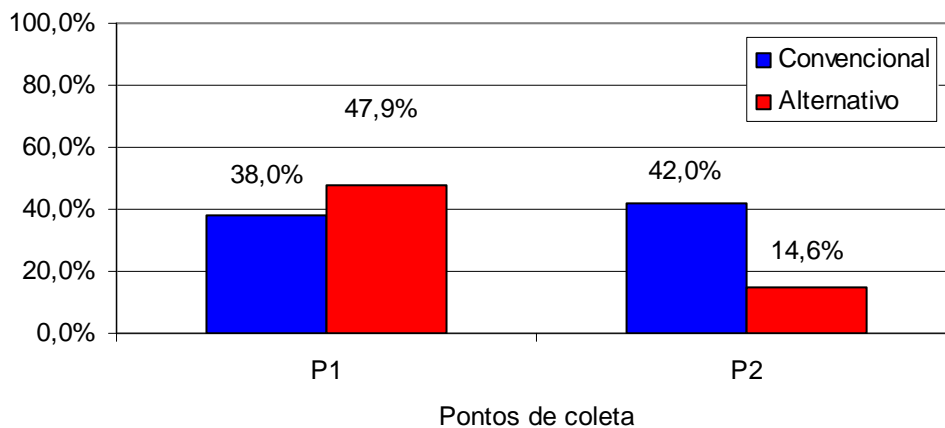


FIGURA 02: Prevalência de *Salmonella* sp. nos diferentes pontos de coleta ( $P_1$  – após a sangria e  $P_2$  – após o pré-resfriamento), em carcaças de frangos convencionais e alternativos.

Esses mesmos resultados podem ser visualizados carcaça por carcaça, tanto para os frangos convencionais como para os alternativos, através das Figuras 03 e 04, respectivamente.

## 5.2 Sorotipagem das cepas de *Salmonella* sp.

De todas as carcaças positivas, ou seja, 29 do sistema convencional e 27 do alternativo, foram selecionadas 88 cepas, as quais foram sorotipadas pela equipe do Instituto Adolfo Lutz de São Paulo, SP. Foram identificados 8 diferentes sorotipos, *S. Alachua*, *S. Havana*, *S. Infantis*, *S. Meleagridis*, *S. Ouakam*, *S. enterica* subsp. *enterica* 13,23:-: I, w, *S. enterica* subsp. *enterica* 6,7:r: - e *S. Enteritidis*, sendo que este foi o mais freqüente, tanto para os

frangos convencionais quanto para os alternativos, correspondendo a 70,2% e 58,5 % dos sorotipos identificados, respectivamente.

Os resultados dos sorotipos identificados em cada carcaça, em cada um dos pontos de coleta, isolados tanto dos frangos convencionais quanto dos frangos alternativos podem ser visualizados nas Tabelas 03 e 04, respectivamente.



TABELA 03 – Distribuição, por ponto de coleta, dos sorotipos de *Salmonella* identificados nas carcaças de frangos convencionais.

Carcaça	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>
01	-	S. Enteritidis
02	S. Enteritidis	S. Enteritidis
04	-	S. Enteritidis
08	S. Enteritidis	-
10	<i>S. entérica</i> subsp. <i>enterica</i> 13,23:-: I, w	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> 13,23:-: I, w
12	<i>S. entérica</i> subsp. <i>enterica</i> 13,23:-: I, w	-
13	S. Ouakam	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> 13,23:-: I, w
14	S. Meleagridis	-
15	<i>S. entérica</i> subsp. <i>enterica</i> 13,23:-: I, w	-
16	S. Enteritidis	-
18	S. Alachua	-
29	S. Ouakam	-
30	S. Ouakam	-
32	S. Enteritidis	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> 13,23:-: I, w
36	-	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> 13,23:-: I, w
37	-	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> 13,23:-: I, w
38	S. Enteritidis	S. Enteritidis
39	-	S. Enteritidis
40	-	S. Enteritidis
41	-	S. Enteritidis
42	-	S. Enteritidis
43	-	S. Enteritidis
44	-	S. Enteritidis
45	S. Enteritidis	S. Enteritidis
46	S. Enteritidis	S. Enteritidis
47	S. Enteritidis	S. Enteritidis
48	S. Enteritidis	S. Enteritidis
49	S. Enteritidis	S. Enteritidis
50	S. Enteritidis	S. Enteritidis

ONDE P<sub>1</sub> = após a sangria da ave;

P<sub>2</sub> = após a etapa de pré-resfriamento em *chiller*

TABELA 04 – Distribuição, por ponto de coleta, dos sorotipos de *Salmonella* identificados nas carcaças de frangos alternativos.

Carcaça	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>
01	Não identificada – cepa morta	-
03	-	S. Enteritidis
04	S. Enteritidis	-
05	-	S. Enteritidis
06	S. Enteritidis	S. Enteritidis
07	S. Enteritidis	-
08	S. Enteritidis	-
09	S. Enteritidis	S. Enteritidis
15	-	Não identificada – cepa morta
17	S. Infantis	S. Infantis
19	S. Infantis	-
20	S. Infantis e <i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> 6,7:r: -	-
21	S. Infantis	-
22	S. Infantis e <i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> 6,7:r: -	-
24	S. Enteritidis	-
25	S. Havana e S. Enteritidis	-
26	S. Enteritidis	-
27	S. Enteritidis	-
30	S. Enteritidis	-
34	S. Enteritidis	-
35	S. Enteritidis	-
40	S. Enteritidis	-
44	S. Enteritidis	-
45	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> 13,23:-: I, w	-
46	S. Enteritidis	-
47	-	S. Enteritidis
48	S. Enteritidis	-

ONDE P<sub>1</sub> = após a sangria da ave;

P<sub>2</sub> = após a etapa de pré-resfriamento em *chiller*

### 5.3 Perfil de resistência a antimicrobianos das cepas de *Salmonella* sp.

No total foram testadas 64 cepas de *Salmonella* no tocante ao perfil de resistência a antimicrobianos, sendo 28 originárias de carcaças de frangos convencionais e 36 de alternativos, todas elas coletadas em P<sub>1</sub> (após a sangria dos frangos).

O número e a porcentagem de cepas de *Salmonella* sp resistentes em cada um dos 14 antimicrobianos testados nos frangos convencionais e alternativos podem ser observados na Tabela 05.

TABELA 05 – Número e porcentagem de cepas resistentes a cada um dos 14 diferentes tipos de antimicrobianos isoladas de frangos convencionais e frangos alternativos.

ANT	CONVENCIONAL		ALTERNATIVO		TOTAL	
	N	%	N	%	N	%
NAL	18	64,3	10	27,8	28	43,7
SUL	28	100	27	91,7	55	85,9
GEN	4	14,3	2	5,5	6	9,4
NEO	-	-	-	-	-	-
TRI	4	14,3	2	5,5	6	9,4
EST	1	3,6	-	-	1	1,6
CLO	1	3,6	3	8,3	4	6,2
ENO	12	42,9	2	5,5	14	21,9
CFC	-	-	2	5,5	2	3,1
CIP	-	-	-	-	-	-
AMP	3	10,7	2	5,5	5	7,8
TET	10	35,7	12	33,3	22	34,4
TOB	2	7,1	2	5,5	4	6,2
AMI	-	-	1	2,8	1	1,6

N = número de cepas; % porcentagem; ANT = Antimicrobiano; NAL = Ácido Nalidixico, SUL= Sulfonamidas, GEN = Gentamicina, NEO = Neomicina, TRI = Trimetoprim, EST = Estreptomicina, CLO = Cloranfenicol, ENO = Enrofloxacina, CFC = Cefaclor, CIP = Ciprofloxacina, AMP = Ampicilina, TET = Tetraciclina, TOB = Tobramicina, AMI = Amicacina.

Através da Tabela 06, visualizam-se as associações de resistência aos antimicrobianos das mesmas cepas testadas.

TABELA 06 – Número e porcentagem de cepas resistentes aos diferentes padrões de associação de antimicrobianos isoladas de frangos convencionais e frangos alternativos

PADRÃO	CONVENCIONAL		ALTERNATIVO	
	N	%	N	%
SUL	04	14,3	16	44,4
TET	-	-	01	2,8
SUL + NAL	04	14,3	04	11,1
SUL + GEN	02	7,1	-	-
SUL + TET	01	3,6	03	8,3
SUL + CLO	-	-	01	2,8
SUL + AMP	-	-	01	2,8
SUL + GEN + TET	-	-	01	2,8
SUL + NAL + ENO	06	21,4	-	-
SUL + TET + TOB	01	3,6	-	-
SUL + NAL + GEN + TET	01	3,6	-	-
SUL + NAL + ENO + TET	02	7,1	01	2,8
SUL + NAL + CFC + AMP	01	3,6	-	-
SUL + GEN + TET + TOB	01	3,6	-	-
SUL + NAL + CFC + TET	-	-	01	2,8
SUL + NAL + TET + TRI	01	3,6	-	-
SUL + TRI + CFC + TET	-	-	01	2,8
SUL + NAL + CLO + ENO+ TET	-	-	01	2,8
SUL + NAL + GEN + TET + TOB	-	-	01	2,8
SUL + NAL + TRI + AMP + TET	-	-	01	2,8
SUL + NAL + TRI + EST + ENO + TET	01	3,6	-	-
SUL + NAL + TRI + CFC + ENO + TET	01	3,6	-	-
SUL + NAL + CLO + TOB + AMI + TET	-	-	01	2,8
SUL + NAL + TRI + CFC + ENO+ TET + AMP	01	3,6	-	-
SUL + NAL + TRI + CFC + ENO + TET + AMP + CLO	01	3,6	-	-
TOTAL	28		34	

n = número de cepas; % porcentagem; NAL = Ácido Nalidixico, SUL= Sulfonamidas, GEN = Gentamicina, NEO = Neomicina, TRI = Trimetoprim, EST = Estreptomicina, CLO = Cloranfenicol, ENO = Enrofloxacina, CFC = Cefaclor, CIP = Ciprofloxacina, AMP = Ampicilina, TET = Tetraciclina, TOB = Tobramicina, AMI = Amicacina

Pela tabela 05, pode-se observar que em relação às 28 cepas das carcaças de frangos convencionais, a maioria delas apresentou resistência, principalmente a dois dos 14 antimicrobianos testados, isto é, todas (100%) foram resistentes às sulfonamidas e 18 (64,3%) delas ao ácido nalidixico. A enrofloxacinina aparece em terceiro lugar, com 12 cepas (42,9%) testadas resistentes a ela e a tetraciclina em quarto com 10 cepas resistentes (35,7%). Quanto à tobramicina e ampicilina, 2 (7,1%) e 3 cepas (10,7%) respectivamente, mostraram-se resistentes às mesmas, sendo que para trimetoprim e a gentamicina, essa resistência foi observada em 4 cepas (14,3%). No caso da estreptomicina e do cloranfenicol, apenas uma cepa (3,6%) mostrou-se resistente. Nenhuma das cepas testadas demonstrou resistência a quatro antimicrobianos: neomicina, ceflacor, ciprofloxacina e amicacina.

No caso das 36 cepas oriundas de carcaças de frangos alternativos, 27 delas (91,7%) apresentaram resistência às sulfonamidas, diferentemente das cepas isoladas de frangos convencionais, onde 100% delas foram resistentes a esses quimioterápicos. Foram resistentes a tetraciclina doze cepas (33,3%) e 10 (27,8%) ao ácido nalidixico. Quanto ao cloranfenicol, 3 cepas (8,3%) foram resistentes ao mesmo. Para seis antimicrobianos, isto é, gentamicina, trimetoprim, enrofloxacinina, ceflacor, ampicilina e tobramicina, apenas 2 cepas (5,5%) mostraram-se resistentes. No tocante à amicacina, apenas uma (2,8%) apresentou resistência a ela, sendo que para neomicina, estreptomicina e ciprofloxacina, todas se mostraram sensíveis.

A relação entre o número de cepas resistentes, tanto para carcaças de frangos convencionais quanto para alternativos e o número de antimicrobianos para os quais isso se deu pode ser visualizado na Figura 05.

A Tabela 06 mostra que todas as 28 cepas isoladas de frangos convencionais apresentaram resistência a pelo menos um antimicrobiano dos 14 testados, sendo que desse total, 18 (64,3%) mostraram resistência de 1 até 3 diferentes quimioterápicos, sendo 4 (14,3%) para 1 droga, 7 (25%) para 2 e outras 7 (25,0%) para 3; 6 cepas (21,4%) foram resistentes a 4 antimicrobianos, 2 (7,2%) para 6, 1 (3,6%) para 7 e 1 (3,6%) para 8.

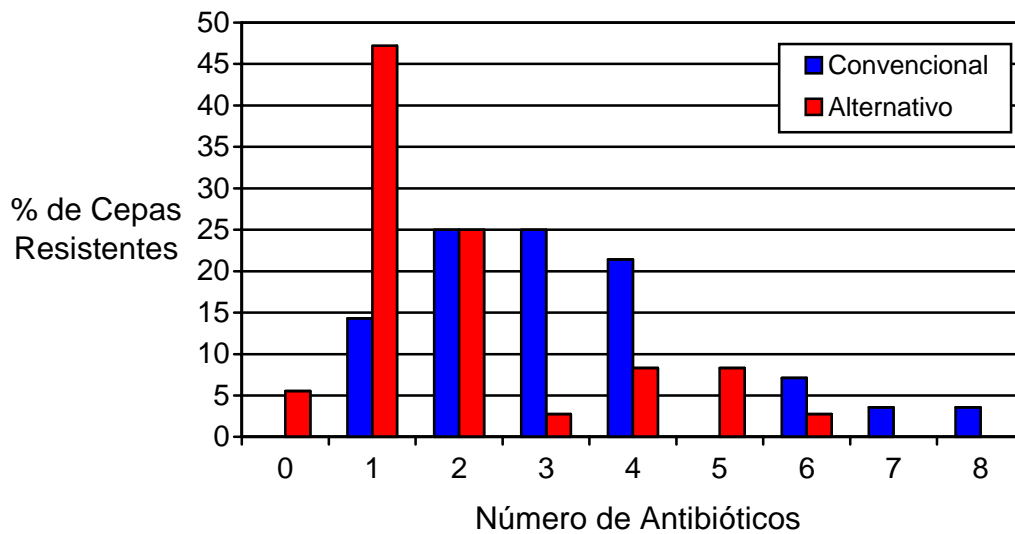


FIGURA 05 – Relação entre a porcentagem de cepas resistentes e o número de antimicrobianos para frangos convencionais e frangos alternativos.

A mesma tabela mostra que, com relação aos frangos alternativos (36 cepas testadas), 2 (5,5%) apresentaram sensibilidade a todas as drogas testadas, sendo que quando observada, a resistência ocorreu no máximo a 6 dos 14 antimicrobianos. 17 cepas (47,2%) mostraram-se resistentes a apenas uma droga, 9 (25,0%) a 2 drogas e apenas 1 (2,8%) foi resistente a 3 antimicrobianos. 3 (8,3%) foram resistentes a 4 e outras 3 (8,3%) a 5 drogas. Embora tenha sido detectada resistência a até 6 antimicrobianos, apenas 1 cepa (2,8%) das 36 encaixava-se nesse grupo.

No que concerne à presença de cepas multiresistentes em ambos os tipos de frangos, isto é, aquelas que apresentam resistência a 4 ou mais diferentes tipos de antimicrobianos, os resultados podem ser observados na Figura 6.

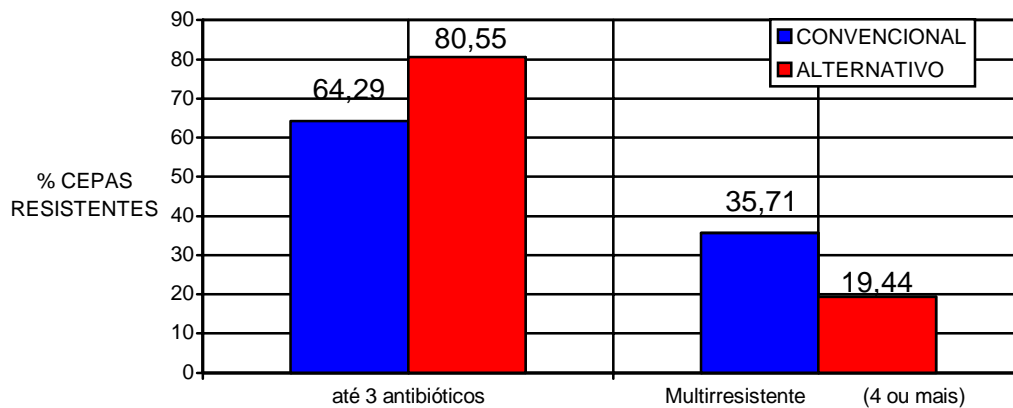


FIGURA 06 – Porcentagem de cepas resistentes e multirresistentes provenientes de carcaças de frangos convencionais e alternativos.

No caso dos frangos convencionais, das 28 cepas testadas, 10 (35,7%) apresentaram multiresistência e 18 (64,3%) resistência simples. Para os alternativos, identificou-se uma resistência simples em 29 (80,5%) das 36 testadas e 19,4% (7 cepas) mostraram-se multirresistentes.

Essas diferenças observadas não são significativas do ponto de vista estatístico ( $p > 0,05$ ).

Nas Tabelas 07 e 08 podem ser observados no caso dos frangos convencionais e alternativos, respectivamente, a distribuição das cepas resistentes entre os sorotipos identificados, bem como o número de antimicrobianos para os quais isso se deu.

Pode-se observar no caso dos frangos convencionais, que entre os sorotipos identificados, apresentaram cepas multirresistentes: *S. Enteritidis* (8 cepas), *S. Ouakam* (1 cepa), *S. Alachua* (1 cepa) sendo que no caso dos alternativos, isto ocorreu para os sorotipos *S. Enteritidis* (4 cepas), *S. Havana* (1 cepa) e *S. 13,23:-:l,w* (1 cepa) e *6,7:r:-* (1 cepa).

TABELA 07 – Número de cepas resistentes para 1 a 8 antimicrobianos em cada sorotipo de *Salmonella* identificado em frangos convencionais.

QA	Sorotipos					T
	Enteritidis	Ouakam	Alachua	Meleagridis	13,23:-:l,w	
<b>0</b>						
<b>1</b>	1			2	1	4
<b>2</b>	4	1			2	7
<b>3</b>	6	1				7
<b>4</b>	4	1	1			6
<b>5</b>						
<b>6</b>	2					2
<b>7</b>	1					1
<b>8</b>	1					1
<b>T total</b>	<b>19</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>28</b>

QA = Quantidade de Antimicrobianos, T = Total

TABELA 08 – Número de cepas resistentes para 1 a 8 antimicrobianos em cada sorotipo de *Salmonella* identificado em frangos alternativos.

QA	Sorotipos					T
	Enteritidis	Infantis	Havana	6,7:r:-	13,23:-:l,w	
<b>0</b>	1	1				2
<b>1</b>	8	6	1	1	1	17
<b>2</b>	9					9
<b>3</b>	1					1
<b>4</b>	2			1		3
<b>5</b>	2				1	3
<b>6</b>			1			1
<b>7</b>						
<b>8</b>						
<b>T total</b>	<b>23</b>	<b>7</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>36</b>

QA = Quantidade de Antimicrobianos, T = Total

## 6. DISCUSSÃO

### 6.1 Prevalência de *Salmonella* spp.

À análise dos dados obtidos no presente trabalho, pode-se observar que das 50 carcaças de frangos convencionais, 29 (58,0%) mostraram-se positivas para *Salmonella* spp. ao longo do abate, sendo que para os alternativos essa porcentagem foi de 56,3% (27 positivas em 48 pesquisadas), diferença não significativa do ponto de vista estatístico ( $p > 0,05$ ).

Percentuais elevados de positividade em frangos convencionais também foram detectados por outros autores em nosso país. Soares (1997), por exemplo, constatou 50% de positividade em carcaças de frangos recém abatidos, sendo que para Fuzihara (2001) esse percentual foi de 42% em estudo realizado em um pequeno abatedouro do Estado de São Paulo. Pinto et al. (2004) em um estudo também realizado no mesmo Estado, verificaram que ao longo de todo o processo de abate, 72,5% das carcaças apresentaram *Salmonella* spp. em algum dos seis pontos de coleta pesquisados.

Pesquisas realizadas em outros países também mostraram resultados bastante variáveis, 23,7% na Polônia (MIKOLAJCZYK & RADKOWSKI, 2002), 56,7% na Espanha (CARRAMIÑANA et al., 1997), 9,9% na Itália (BUSANI et al., 2005) e até valores elevadíssimos como 100% no Kwait (ABU-RUWAID et al., 1994).

Apesar dessa variabilidade de resultados, devido, entre outros fatores, da região em que os trabalhos foram realizados, sazonalidade, condições ambientais e dos abatedouros, bem como o emprego de diferentes metodologias para isolamento do patógeno, eles são preocupantes e ratificam uma tendência mundial segundo Peresi et al. (1999) e Jay (2000) de que a carne de aves é um veículo importante e comumente envolvido em casos de infecções humanas por *Salmonella*.

Os resultados do presente trabalho revelam que uma porcentagem significativa de aves já chegava contaminada aos abatedouros, tanto no caso dos frangos convencionais (38,0%), quanto dos alternativos (47,9%), diferença essa não significativa do ponto de vista estatístico ( $p > 0,05$ ). Esses dados, que refletem a contaminação proveniente das granjas, demonstram, que a não

utilização dos antimicrobianos como promotores de crescimento, não levou a um aumento da carga patogênica nas aves, preocupação já exposta por outros autores (EVANS & WEGENER, 2003).

Levantamento mais abrangente realizado na Dinamarca mostra, inclusive, que houve uma diminuição significativa ( $p < 0,0001$ ) na prevalência de *Salmonella* spp. após a retirada dos antimicrobianos, passando de 14,4% para 2,4%. No entanto, os autores admitem que outras ações, além da retirada dos promotores de crescimento podem ter contribuído para essa diminuição. De qualquer forma, os resultados podem ser considerados auspiciosos, segundo Evans & Wegener (2003).

Prevalências mais altas de *Salmonella* spp., no entanto, foram relatadas por Bailey & Cosby (2005), ao analisarem frangos submetidos a três diferentes manejos alternativos, mas com uma característica em comum entre eles, a não utilização de promotores de crescimento. Os grupos alternativos eram compostos por a) aves não-confinadas (“free range chickens”), b) não-confinadas orgânicas (“organic free range chickens”) e c) totalmente naturais (“all natural chickens”), isto é, que não recebiam quaisquer alimentos de origem animal em sua ração, sendo que a prevalência do patógeno foi de 31%, 60% e 25%, respectivamente. Embora os autores não tenham em seu estudo utilizado um grupo controle com frangos convencionais, seus resultados foram comparados com registros oficiais do governo norte-americano, que mostravam uma prevalência de *Salmonella* spp. em aves criadas convencionalmente, variando de 9,1% a 12,8% durante o período de 2000 a 2003.

Apesar dos dados revelarem uma maior prevalência do patógeno nas aves alternativas, Bayley & Cosby (2005) destacaram que 10 dos 22 lotes desse tipo de ave encontravam-se livres de *Salmonella* spp., resultado muito similar aos obtidos em um levantamento epidemiológico realizado em diversos estados norte-americanos, que apontaram 19 lotes livres em 32 pesquisados no caso de frangos convencionais.

Para os autores, uma das explicações para a maior prevalência de *Salmonella* spp. nos frangos alternativos está relacionada ao tipo de manejo a que essas aves estão submetidas nos Estados Unidos, já que ao não serem criadas confinadas, têm acesso ao exterior dos galpões, onde as chances de

contato com aves silvestres, insetos e roedores, carreadores potenciais do patógeno, são maiores, aumentando a chance de contaminação.

Outro ponto importante deve ser levantado ao se discutir os resultados de Bayley & Cosby (2005). A determinação da prevalência de *Salmonella* spp. deu-se a partir da análise microbiológica das carcaças processadas e não a partir das fezes dos animais ou no início do processo de abate. Neste caso, este processo pode ter influenciado nos valores obtidos, os quais podem então, não estar refletindo a condição de criação e a prevalência real do patógeno nas granjas produtoras. Sabe-se que o abate de aves possui muitos pontos críticos em relação à contaminação por *Salmonella* spp., os quais se não forem devidamente controlados, poderão elevar em muito a taxas de contaminação ao final das operações (BRYAN & DOYLE, 1995).

Essa mesma precaução deve ser levada em conta ao se analisar outros trabalhos que procuraram comparar a prevalência de *Salmonella* spp. em frangos alternativos e ou orgânicos à dos convencionais. Tanto Izat et al. (1991) quanto Cui et al. (2005) encontraram valores superiores de prevalência nos primeiros, mas tais dados, obtidos a partir de amostras colhidas ao final do abate ou até mesmo no comércio varejista, podem não estar refletindo a verdadeira contaminação das granjas, mas, ao contrário, ser resultante de uma série de fatores que, sabidamente, possuem influência sobre a contaminação do produto final.

Seguindo essa linha de raciocínio, se analisarmos os dados do presente trabalho relativos à contaminação das carcaças em P<sub>2</sub> (após o pré-resfriamento das carcaças), podemos observar que os frangos convencionais apresentaram uma contaminação superior aos dos alternativos, 47,9% e 14,6% respectivamente, resultados que, de maneira análoga, não representam em absoluto a prevalência de *Salmonella* spp. nas granjas produtoras, mas são resultantes das operações de abate das aves.

Os abatedouros nas quais foram realizadas as coletas diferiam muito entre si, a começar pelo volume de abate, em média dez vezes superior no caso dos frangos convencionais (70.000 aves/dia) quando comparado ao dos alternativos (7.000 aves/dia). Em conseqüência dessa maior capacidade de produção do abatedouro convencional, a velocidade do abate era maior, com reflexos na contaminação das carcaças. Além disso, a maior circulação de

funcionários aliada a um fluxo de produção com deficiências são outros fatores que podem ter contribuído para esse percentual mais elevado.

Quanto ao abatedouro de aves alternativas, além da velocidade de abate ser bem menor, o que contribui em muito para um maior controle da contaminação, as suas instalações eram melhor planejadas e distribuídas, de acesso mais fácil para a equipe de higienização, com menor circulação de pessoal, isto é, havia um maior controle das variáveis responsáveis pelo processo de contaminação cruzada das carcaças.

Em termos gerais, pode-se afirmar que as características do processo de abate foram fundamentais no caso dos frangos alternativos, pela diminuição da contaminação inicialmente detectada nas aves que chegavam à indústria, e no caso dos convencionais, pelo seu aumento. Tais resultados, no entanto, não refletem o perfil sanitário das granjas das quais as aves eram originárias. Deve ser ressaltado, inclusive, que em relação à *Salmonella* spp. nas granjas produtoras, a não utilização de antimicrobiano como promotores de crescimento não resultou em uma aumento de sua prevalência nos plantéis analisados.

## **6.2 Sorotipagem das cepas de *Salmonella* sp.**

A sorotipagem das cepas de *Salmonella* revelou uma grande predominância de *S. Enteritidis*, tanto em frangos convencionais (70,2% dos sorotipos) quanto nos alternativos (58,5%). Tavechio et al. (1996) e D'Aoust et al. (2001) relatam que este sorotipo esteve pouco implicado no passado, em doenças em animais e no homem, 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, onde sua participação passou de 1,2% em 1991 para 65,9% em 1995.

Os resultados confirmam que essa predominância de *S. Enteritidis*, embora em percentuais variáveis, mas normalmente elevados, já detectada anteriormente em nosso país em amostras de origem avícola por Fuzihara (2001), 30%, Santos et al. (2000), 60,4%, Andreatti Filho et al. (2001), 46,6% e Tessari et al. (2003), 19,1%, continua a ocorrer, fato preocupante do ponto de

vista de saúde pública, tendo em vista a participação expressiva desse sorotipo como agente de ETA.

Dos oito sorotipos identificados em nossa pesquisa, dois deles, *S. Enteritidis* e *S. 13,23:l,w*, foram isolados tanto de carcaças convencionais quanto das alternativas. Já *S. Ouakan*, *S. Meleagridis* e *S. Alachua* foram isoladas somente das convencionais, sendo que *S. Infantis*, *S. Havana* e *S. 6,7:r:-* apenas das alternativas. Essa exclusividade em relação à origem das carcaças, verificada para alguns dos sorotipos, não parece ser importante ocorrendo de maneira fortuita. *S. Infantis* e *S. Havana*, por exemplo, já haviam sido anteriormente isoladas em nosso país de aves e carcaças oriundas de sistemas convencionais de produção (SILVA & DUARTE, 2002; MATHEUS et al., 2003). O mesmo ocorreu para *S. Infantis*, detectada em carcaças obtidas de frangos convencionais criados no Brasil e que haviam sido exportadas para a Irlanda do Norte, onde a análise foi realizada (WILSON, 2004).

Essa exclusividade de sorotipos em relação às aves oriundas de diferentes manejos também não foi observada por Cui et al. (2005) ao trabalharem com amostras de frangos convencionais e orgânicos dos Estados Unidos. Os mesmos sorotipos foram encontrados em ambos os tipos de frangos, reforçando, em nosso entender, a hipótese da não existência dessa relação.

Cabe salientar que a determinação dos sorotipos de *Salmonella* constitui-se em uma ferramenta extremamente valiosa do ponto de vista epidemiológico. A emergência e reemergência de diferentes sorotipos na cadeia de produção animal deve ser constantemente monitorada, tendo em vista os graves reflexos que os mesmos podem ter sobre a saúde humana e animal.

A emergência, na Holanda, de *Salmonella* Paratyphi B, var. Java é um exemplo cristalino dessa questão: sua prevalência nos plantéis avícolas daquele país era de 2% até 1996 e, em 2002, já alcançava a cifra de 60%. Embora a infecção humana por *S. Java* seja rara (0,3% dos isolados), já se observou que 50% dos isolados humanos desse sorotipo apresentavam um perfil de DNA idêntico aos mostrados por isolados de aves (VAN PELT et al., 2003). Por outro lado, a reemergência de *S. Typhimurium*, cujo isolamento a partir de animais e humanos com quadro de salmonelose tem, segundo Poppe

et al. (1998), aumentado muito nos últimos anos em vários países como Inglaterra, Estados Unidos e Canadá, é outro exemplo da importância que o monitoramento dos sorotipos de *Salmonella* possui do ponto de vista epidemiológico.

É importante observar quais serão os efeitos que a vacinação das matrizes de frango de corte contra *Salmonella* Enteritidis terá sobre a prevalência desse sorotipo em nossos plantéis. Autorizada pelo MAPA em 2003 (BRASIL, 2003(b)), com o intuito de diminuir a contaminação de nossas aves por esse patógeno, tal medida poderá abrir um nicho a ser ocupado por um outro sorotipo do gênero, com reflexos junto à saúde animal e humana, ratificando assim a necessidade de um monitoramento contínuo dos plantéis avícolas.

### **6.3 Perfil de resistência a antimicrobianos das cepas de *Salmonella* isoladas**

Na atual pesquisa, 28 cepas isoladas das carcaças de frangos convencionais e 36 isoladas de frangos alternativos, ambas coletadas após a sangria, foram testadas. Esse critério foi estabelecido a fim de traçar um perfil mais fidedigno de resistência das salmonelas aos antimicrobianos, já que as aves aí amostradas refletiam o perfil de contaminação das granjas das quais eram originárias e, em última análise, dos diferentes sistemas de criação, convencional e alternativo.

Em termos gerais, na análise do perfil de resistência das cepas testadas, sem considerarmos a sua origem (ave alternativa ou convencional), podemos observar (Tabela 05) que a 4 (sulfonamidas, ácido nalidíxico, tetraciclina e enrofloxacina) dos 14 antimicrobianos testados, a resistência se deu em percentuais superiores a 20%. Inicialmente chama a atenção o elevado percentual de resistência (85,9%) das cepas às sulfonamidas, resultado também obtido por Oliveira et al., (2005) em cepas de *S. Enteritidis* isoladas de carcaças de frangos (90,9%) e de material avícola (100%). Segundo esses autores esses resultados eram esperados, já que as sulfas são normalmente administradas às aves no Brasil, tanto como agente terapêutico para combater infecções bacterianas ou como promotores de crescimento, em

doses subterapêuticas. Há que se salientar que Fuzihara (2001) havia descrito índices bem inferiores de resistência a essas drogas (7%) em trabalho anterior, também em cepas isoladas de carcaças de frangos em nosso país. Somente para um sorotipo, S. Albany, os valores foram semelhantes aos nossos, tendo a autora detectado nesse caso, 89% de cepas resistentes. Wilson (2004) também detectou um percentual elevado de cepas resistentes às sulfonamidas (52%) provenientes de amostras de frango coletadas em Belfast, Irlanda do Norte.

Um ponto importante a se destacar é que a resistência observada para as sulfonamidas deu-se tanto para as cepas isoladas de carcaças convencionais (100%) quanto das alternativas (91,7%).

Esse mesmo perfil de resistência elevada para cepas provenientes de ambos os tipos de criação também foi detectada em relação às tetraciclinas. Na média ela foi de 34,4%, sendo de 35,7% para os convencionais e 33,3% para os alternativos. Segundo Carramiñana et al. (2004) e Oliveira et al. (2005), este antimicrobiano tem sido uma das drogas mais comumente usadas terapêuticamente na produção animal, sendo que a alta frequência de resistência encontrada entre quase todos os sorovares bacterianos em relação a essa droga é, provavelmente, uma consequência disso.

Deve ser observado que ambas as drogas, sulfonamidas e tetraciclinas, tiveram seu uso proibido para utilização em criações animais em nosso país desde 1998 pelo MAPA, através da Portaria Ministerial nº 193, de 12 de maio de 1998 (BRASIL, 1998), mas mesmo assim, cepas resistentes a elas têm sido detectadas, como ocorreu no presente trabalho. Segundo Franco et al. (1990) e D'Aoust et al. (1992), um longo período de uso subterapêutico de antimicrobianos em criações animais permite uma seleção e disseminação de transferência de resistência múltipla em organismos entéricos por fatores de resistência (fatores R). Além disso, uma vez que o gene da resistência se torna amplamente disseminado, é difícil traçar um retorno a sua origem (WITTE, 1998).

Um número elevado de cepas (43,7%) também mostrou-se resistente ao ácido nalidíxico, sendo que no caso dos frangos convencionais essa percentagem foi de 64,3% e no dos alternativos, de 27,8%. Os resultados são bem superiores aos detectados anteriormente em nosso país por Fuzihara

(2001), < 1% e por Oliveira et al (2005), 7,7%, e preocupantes, dado o aumento considerável na porcentagem de cepas resistentes, embora Feinman (1998) já tivesse alertado para o fato de que as salmonelas isoladas de animais eram freqüentemente resistentes a essa droga.

Essa preocupação é ainda maior na análise dos dados referentes à resistência das cepas à enrofloxacina. No total, 21,9% delas foram resistentes a essa droga, sendo que no caso dos frangos convencionais este percentual foi bem mais elevado (42,9%) quando comparado aos dos alternativos (5,5%).

O aumento verificado na Europa no número de cepas de *Salmonella* resistentes às quinolonas, isoladas a partir de animais de produção e humanos, aumentou substancialmente nos anos seguintes à liberação das fluoroquinolonas (enrofloxacina, por exemplo) para uso veterinário (THRELFALL et al., 1997; MALOMY et al., 1999). De acordo com Oliveira et al. (2005), era de se esperar que a mesma situação ocorresse no Brasil, já que esse antimicrobiano é muito empregado na prática veterinária, confirmando os resultados obtidos, especialmente no caso dos frangos convencionais.

A preocupação ocorre porque de acordo com vários pesquisadores (ENDTZ et al., 1991; GARAU et al., 1999), as fluoroquinolonas são agentes antimicrobianos muito empregados no tratamento de infecções invasivas por *Salmonella* em adultos, podendo ainda ser prescrita para práticas gerais em gastroenterites humanas, sendo, portanto, o seu uso inadequado na produção avícola.

Uma segunda fluoroquinolona também foi testada, a ciprofloxacina, mas neste caso não se observou nenhuma cepa resistente a ela em ambos os tipos de frango.

Em relação aos demais antimicrobianos analisados, percentuais de resistência acima de 10% só foram verificados para ampicilina (10,7%), trimetropin (14,3%) e gentamicina (14,3%), e, mesmo assim, somente nos frangos convencionais. Nos alternativos esses valores foram de 5,5% para as três drogas. Para os seis restantes, a resistência sempre ficou abaixo de 10%, sendo que para a neomicina, a exemplo da ciprofloxacina, nenhuma cepa de ambos os tipos de frango mostrou resistência.

Em termos gerais, para os antimicrobianos testados, os resultados mostram que a resistência, quando observada, sempre foi maior nas cepas

oriundas dos frangos convencionais, com uma única exceção, o cloranfenicol, em que o percentual de cepas resistentes foi superior nos alternativos (8,3%) quando comparado aos convencionais (3,6%).

Tais resultados podem configurar uma tendência, que embora não tenha sido comprovada estatisticamente, merece ser melhor avaliada em estudos envolvendo um maior número de cepas de *Salmonella*.

Essa tendência pode ser melhor observada e corroborada na análise dos dados referentes ao número de cepas multirresistentes, ou seja, aquelas que apresentam resistência a 4 ou mais antimicrobianos, isoladas em ambos os tipos de frangos (Figura 06). No caso dos convencionais elas foram 10 (35,7%) e para os alternativos, 7 (19,4%). De maneira inversa, o percentual de cepas com resistência simples (até 3 antimicrobianos) foi superior nos alternativos (80,6%) em relação aos convencionais (64,3%). Cabe ainda salientar que cepas com resistência a 7 ou 8 drogas só foram detectadas nos convencionais e pertencentes ao sorotipo Enteritidis.

O encontro de um percentual elevado de cepas multirresistentes, especialmente nos frangos convencionais é preocupante e, embora já tenha sido detectado em nosso país em amostras originárias de material avícola, em trabalho recentemente publicado (OLIVEIRA et al., 2005), o foi em valores menores (28,6%) do que aquele registrado por nós. Além disso, se comparamos estes dois percentuais aos obtidos por Fuzihara em 2001, (4% de cepas multirresistentes), veremos que o aumento verificado foi brutal.

Outro ponto importante a ser discutido refere-se ao encontro em frangos alternativos de cepas de *Salmonella* com perfil de resistência a determinados antimicrobianos. Como explicar que a partir de aves não expostas a essas drogas tenham sido isoladas cepas resistentes, algumas delas inclusive multirresistentes?

Algumas hipóteses podem ser levantadas para responder essa questão: a primeira delas relaciona-se com a origem das aves. No modelo de produção avícola vigente em nosso país, grande parte do material genético ainda é importado na forma de avós, que por sua vez darão origem às matrizes e estas aos pintos de 1 dia, entregues ao granjeiros para serem criados e enviados ao abate. A empresa produtora de frangos alternativos na qual foram colhidas as amostras para o presente trabalho, utiliza esse mesmo modelo de produção,

adquirindo suas matrizes a partir de linhagens comerciais desenvolvidas por uma empresa do setor, que também atende outras empresas produtoras de frangos convencionais. Não foram obtidas informações sobre a existência ou não de protocolos especiais de criação acordados entre esses parceiros, no que se refere ao emprego de antimicrobianos nos avozeiros e matrizeiros. No entanto, mesmo que eles existam, sempre há a possibilidade de contaminação das aves por cepas de *Salmonella* presentes no ambiente, nos vários estágios envolvidos na produção do pinto de um dia a ser entregue ao granjeiro, já que a cadeia de produção de aves de corte possui inúmeros pontos críticos, onde isso pode ocorrer (JONES et al., 1991). Havendo a contaminação por cepas resistentes, essas poderiam ser transmitidas verticalmente e alcançar os estágios finais de produção, disseminando-se a partir daí para os plantéis de aves alternativas.

Uma segunda hipótese, também relativa ao ambiente de criação, pode ser levantada. Ao serem alojadas nos galpões das granjas até crescerem e atingirem o peso de abate, tais aves estão sujeitas a várias fontes de contaminação, não só por patógenos, entre eles *Salmonella*, mas também por outras bactérias comensais, ambas portadoras de genes de resistência a antimicrobianos. Esses microrganismos podem então se disseminar, de fazenda a fazenda, através de material contaminado, animais silvestres ou outras fontes ambientais, carreando consigo o perfil de resistência (RICE et al., 1995, 1999; DAVIS et al., 2003). Assim, ao serem expostos a esses patógenos ou bactérias comensais portando tais genes, as aves alternativas, mesmo não tendo acesso a drogas antimicrobianas, correm o risco de terem sua microbiota intestinal colonizada por microrganismos resistentes a elas (BJORKMAN et al., 2000).

Considerando-se ainda que uma vez instalado, o gene da resistência se torna amplamente disseminado, sendo difícil traçar um retorno a sua origem (WITTE, 1998), pode-se entender o encontro de cepas resistentes a antimicrobianos em aves criadas sem o emprego dos mesmos.

Talvez, com o passar do tempo, essas variáveis possam ser melhor controladas, com reflexos sobre a presença dessa microbiota resistente a antimicrobianos.

Torna-se importante a realização de estudos adicionais que possam ao longo de um período maior de tempo e com um número maior de cepas de *Salmonella* isoladas de tais aves, avaliar os efeitos a longo prazo da não utilização de promotores de crescimento sobre o perfil de resistência a antimicrobianos, tendo em vista a importância de tal tópico no que se refere à saúde humana e animal.

## 7. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, conclui-se que:

- a) a não utilização de antimicrobianos como promotores de crescimento nas frangos alternativos, não levou a um aumento da prevalência de *Salmonella* spp. nesse tipo de criação;
- b) as cepas de *Salmonella* oriundas de frangos alternativos mostraram uma tendência de menor resistência aos antimicrobianos testados quando comparadas à dos convencionais;
- c) as operações de abate, no caso dos frangos alternativos, foram responsáveis pela diminuição da contaminação por *Salmonella* inicialmente observada, sendo que no caso dos convencionais, pelo seu aumento.

## 8. REFERÊNCIAS<sup>1</sup>

AARESTRUP, F.M.; KRUSE, H.; TAST, E.; HAMMERUM, A.M.; JENSEN, L.B. Associations between the use of antimicrobial agents for growth promotion and the occurrence of resistance among *Enterococcus faecium* from broilers and pigs in Denmark, Finland and Norway. **Microb Drug Resis.**, v.6, p.63-70, 2000.

AARESTRUP, F.M.; SEYFARTH, A.M.; EMBORG, H.N.; PEDERSEN, K.; HENDRIKSEN, R.S.; BAGER, F. Effect of abolishment of the use of antimicrobial agents for growth promotion on occurrence of antimicrobial resistance in fecal enterococci from food animals in Denmark. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v.45, p.2054-2059, 2001.

ABU-RUWAIDA, A.S.; SAWAYA, W.N.; DASHTI, B.H.; MURAD, M.; AL-OTHMAN, H.A. Microbiological quality of broilers during processing in a modern commercial slaughterhouse in Kuwait. **J. Food Prot.**, v.57, p.887-892, 1994.

ANDERSON, A.D.; NELSON, J.M.; ROSSITER, S.; ANGULO, F.J. Public health consequences of use of antimicrobial agents in food animals in the United States. **Microb. Drug Resis.**, v.9, n.4, p.373-379, 2003.

ANDREATTI FILHO, R.L.; FERNANDES, S.A.; BORETTI, L.P.; BARROS, M. R.; DEL BEM, S.R.; FONTANA, A.; SAMPAIO, H.M.; SAVANO, E.N. Sorovares de *Salmonella* isolados de materiais avícolas no período de 1994 a 1999. **Rev. Educ. Contin. CRMV – SP**, v.4, n.3, p.90-101, 2001.

---

<sup>1</sup> ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação - Referências - Elaboração. Rio de Janeiro, 2002. 24p. BIOSIS. **Serial sources for the BIOSIS preview database**. Philadelphia, 1996. 468p.

ANDREWS, W.H.; JUNE, G.A.; SHERROD, P.S.; HAMMAK, T.S.; AMAGUANA, R.M. *Salmonella*. In: FOOD AND DRUG ADMINISTRATION . **Bacteriological analytical manual**: Revision A. 8 th ed. Gaithersburg: AOAC INTERNATIONAL, 1998. p.5.01-5.020.

ANGULO, F. J.; JOHNSON, K.; TAUXE, R.V.; COHEN, M.L. Significance and sources of antimicrobial-resistant nontyphoidal *Salmonella* infectious in the United States. **Microb. Drug Resist.**, v.6, p.77-83, 2000.

AVAL - ASSOCIAÇÃO DA AVICULTURA ALTERNATIVA. Disponível em: <<http://www.aval.org.br>>. Acesso em: 28 ago. 2003.

ÁVILA F.A.; SILVA, E.N.; FERREIRA, M.D. Isolamento e identificação de *Salmonella* em cama de aviário nos arredores de Belo Horizonte. **Arq. Esc. Vet.**, v.24, n.3, p.227-229, 1972.

BAGER, F.; AARESTRUP, F.M.; MADSEN, M.; WEGENER H.C. Glyco-peptide resistance in *Enterococcus faecium* from broilers and pigs following discontinued use of avoparcin. **Microb. Drug Resis.**, v.5, p.53-56, 1999.

BAGER, F.; EMBORG, H.D. (Eds.). Danmap 2000: consumption of antimicrobial agents and resistance to antimicrobial agents in bacteria from food animals, food and humans in Denmark: report from Statens Serum Institut, Danish Veterinary and Food Administration, Danish Medicines Agency and Danish Veterinary Laboratory, 2001. Disponível em: <<http://www.vetinst.dk/dk/Publikationer/Danmap/Danmap%202000.pdf>\ > Acesso em 12 nov. 2001.

BAILEY, J.S.; COSBY, D.E. Research note: *Salmonella* prevalence in free-range and certified organic chickens. **J. Food Prot.**, v.68, n.11, p.2451-2453, 2005.

BAIRD-PARKER, A.C. Foodborne salmonellosis. **Lancet**, v.336, p.1231-1235, 1990.

BANATVALA, N.; MAGNANO, A.R.; CARTTER, M.L.; BARRETT, T.J.; BIBB, W.F.; VASILE, L.L.; MSHAR, P.; LAMBERT-FAIR, M.A.; GREEN, J.H.; BEAN, N.H.; TAUXE, R.V. Meat grinders and molecular epidemiology: two supermarket outbreaks of *Escherichia coli* O 157:H7 infection. **J. Infect. Dis.**, v.173, p.480-483, 1996.

BAUER, A.W.; KIRBY, M.M.W.; SHERRIS, J.C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.*, v.45, p.493-496, 1966.

BERCHIERI JÚNIOR, A.; IRINO, K.; NEME, S.N.; PAULILLO, A. C.; CALZADA, C.T.; FERREIRA, S. A.; PESSÔA, G.V.A. Contaminação por *Salmonella* em farinhas de origem animal utilizadas no preparo de ração. **Pesqui. Vet. Bras.**, v.4, n.3, p.83-88, 1984.

BERCHIERI JÚNIOR, A.; ADACHI, S.Y.; CALZADA, C.T.; PAULILLO, A.C.; SCHOKEN-ITURRINO, R.P.; TAVECHIO, A. T. Farinha de carne como fonte de *Salmonella* em granja avícola. **Pesqui. Vet. Bras.**, v.9, n.1/2, p.9 – 12, 1989.

BERCHIERI JÚNIOR, A.; FERNANDES, S.A.; IRINO, K.; QUINTANA, J.L.; SANTOS, A.J. *Salmonella* in poultry feeds in Brazil. **Rev. Microbiol.**, v.24, n.1, p. 22-25, 1993.

BJORKMAN, J.; NAGAEV, I.; BERG, O.G.; HUGHES, D.; ANDERSON, D.I. Effects of environment on compensatory mutations to ameliorate costs antibiotic resistance. **Science**, v.287, p.1479-1482, 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Portaria Ministerial nº 193, de 12 de maio de 1998**. Brasília,1998. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/consultasislegis/do/consultaLei?op=list&back=>>>. Acesso em 05 jan. 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Portaria nº 31, de 29 de janeiro de 2002**. Brasília, 2002. Disponível em:

<<http://extranet.agricultura.gov.br/consultasislegis/do/consultaLei?op=list&back>  
=>. Acesso em 05 jan. 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 9, de 27 de junho de 2003** Brasília, 2003(a). Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/consultasislegis/do/consultaLei?op=list&back>  
=>. Acesso em 05 jan. 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 78, de 03 de novembro de 2003** Brasília, 2003(b). Disponível em:  
<<http://extranet.agricultura.gov.br/consultasislegis/do/consultaLei?op=list&back>  
=>. Acesso em 12 set. 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 11, de 24 de novembro de 2004**. Brasília, 2004. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/consultasislegis/do/consultaLei?op=list&back>  
=>. Acesso em 05 jan. 2006.

BRYAN, F.L.; DOYLE, M.P. Health risks and consequences of *Salmonella* and *Campylobacter jejuni* in raw poultry. **J. Food Prot.**, v.58, p.326-344, 1995.

BUSANI, L.; CIGLIANO, A.; TAIOLI, E.; CALIGIURI, V.; CHIAVACCI, L.,C; DI BELLA, C.A.; BATTISTI, A.; DURANTI, A.; GIANFRANCESCHI, M.; NARDELLA, M.C.; RICCI, A.; ROLESU, S.; TAMBA, M.; MARABELLI, R.; CAPRIOLI, A. Prevalence of *Salmonella* enterica and *Listeria monocytogenes* contamination in foods of animal origin in Italy. **J. Food Prot.**, v.68, n.8, p.1729-1733, 2005.

CARRAMIÑANA, J.J.; YANGUELA, J.; BLANCO, D.; ROTA, C.; AGUSTIN, A. I.; ARIÑO, A. HERRERA, A. *Salmonella* incidence and distribution of serotypes throughout processing in a spanish poultry slaughterhouse. **J. Food Prot.**, v.60, n.11, p.1312-1317,1997.

CARRAMIÑANA, J.J.; ROTA, C.; AGUSTIN, I.; HERRERA, A. High prevalence of multiple resistance to antibiotics in *Salmonella* serovars isolated from poultry slaughterhouse in Spain. **Vet. Microbiol.** v.104, p.133-139, 2004.

CASEWELL, M.; FRIIS, C.; MARCO, E.; McMULLIN, P.; PHILLIPS, I. The European ban on growth-promoting antibiotics and emerging consequences for human and animal health. **J. Antimicrob. Chemother.**, v.52, p.159 -161, 2003.

CLAYCAMP, H.G.; HOOBERMAN, B. Antimicrobial resistance risk assessment in food safety. **J. Antimicrob. Chemother.**, v.67, n.9, p.2063- 2071, 2004.

COCHRAN, W. E.; COX, G. M. **Experimental designs.** 2<sup>o</sup> ed. New York: John Wiley & Sons, 1957. 611.p

COMMISSION REGULATION OF AMENDING COUNCIL DIRECTIVE 70/524/EEC. **Commission regulation of amending council directive 70/524/EEC concerning additives in feedingstuffs as regards withdrawal of the authorization of certain antibiotics.** Document No.: VI/7767/98. Brussels: European Commission, 1998.

COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES. (2002). **Proposal for a regulation of the European Parliament and of the Council on Additives for Use in Animal Nutrition.** Disponível em: <<http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/additivesreg.pdf>> acesso em: 7 jan. 2004.

CRUCHAGA, S.; ECHEITA, A.; ALADUEÑA, A.; GARCIA-PENA, J.; FRIAS, N.; USERA, M.A. Antimicrobial resistance in salmonellae from humans, food and animals in Spain in 1998. **J. Antimicrob. Chemother.**, v.47, p.315-321, 2001.

CUI, S.; GE, B.; ZHENG, J.; MENG, J. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* spp. and *Salmonella* serovars in organic chickens from Maryland retail stores. **Appl. Environ. Microbiol.**, v.71, n.7, p.4108-4111, 2005.

DAVIS, M.A.; HANCOCK, D.D.; RICE, 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*. **Vet. Microbiol.**, v.95, p.199-210, 2003.

DAVIES, R.H.; WRAY, C. Contribution of the lesser mealworm beetle (*Alphitobius diaperinus*) to carriage of *Salmonella* Enteritidis in poultry. **Vet. Rec.**, v.137, n.16, p.407-408, 1995.

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.

D'AOUST, J.Y.; SEWELL, A.M.; DALEY, E.; GRECO, P. Antibiotic resistance of agricultural and foodborn *Salmonella* isolates in Canada:1986-1989. **J. Food Prot.**, v.55, p.428-434, 1992.

DOYLE, M.P. The emergence of new agents of foodborne disease in the 1980s. **Food Res. Int.**, v.27, p.219-226, 1994.

D´SILVA, J. **Factory farming and developing countries:** a comassion in world farming trust briefing. 2000. Disponível em: <[http://www.ciwf.co.uk/Pubs/Reports/Developing\\_Countries\\_report.pdf](http://www.ciwf.co.uk/Pubs/Reports/Developing_Countries_report.pdf)>. Acesso em: 14 jan. 2003.

DUPONT, H.L.; STTELE, J.H. Use of antimicrobial agents in animal feeds: implications for human health. **Rev. Infect. Dis.** v.9, p.447-460, 1987.

ENDTZ, H.P.; RUIJS, G.J.; VAN KLINGEREN, B.; JANSEN,W.H.; VAN DER RYDEN, T.; MOUNTON, R.P. Quinolone resistance in *Campylobacter* isolated from man ad poultry following the introduction of fluoroquinolones in veterinary medicine. **J. Antimicrob. Chemother.**, v.27, p.199-208, 1991.

EVANS M.C.; WEGENER, H.C. Antimicrobial growth promoters and *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. in poultry and swine, Denmark. **Emerg. Infect. Dis.**, v.9, p.489-492, 2003.

FEINMAN, S.E. Antibiotics in animal feed-drug resistance revisited. **Am. Soc. Microbiol. News**, v.64, p.24-30, 1998.

FOODNET data on the incidence of infection with pathogens transmitted commonly through food – 10 sites, United States, 2004. **MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.**, v.52, n.14, p.352-356, 2005.

FRANCO, D. A.; WEBB, J.; TAYLOR, C. E. Antibiotic and sulfonamide residues in meat. Implications for human health. **J. Food Prot.**, v.53, p.178-185, 1990.

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

GARAU, J.; XERCAVINS, M.; RODRÍGUEZ-CABALLEIRA, M. Emergence and dissemination of quinolone-resistant *Escherichia coli* in the community. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v.43, p.2736-2741, 1999.

GILL, C.O.; BADONI, M.; MCGINNIS, J.C. Assessment of the adequacy of cleaning of equipment used for breaking beef carcasses. **Int. J. Food Microbiol.**, v.46, p.1-8, 1999.

HACKING, W.C.; MITCHELL, W.R.; CARLSON, H.C. Sources of *Salmonella* in broiler chickens in Ontario. **Can. J. Comp. Med.**, v.42, n.4, p.392-399, 1978.

HENZLER, D.J.; OPITZ, H.M. The role of mice in the epizootiology of *Salmonella* Enteritidis infection on chicken layer farms. **Avian Dis.**, v.36, n.3, p. 625-631, 1992.

HOFER, E.; SILVA FILHO, S.J.; REIS E.M.F. Prevalência de sorovares de *Salmonella* isolados de aves no Brasil. **Pesqui. Vet. Bras.**, v.17, n.2, p.55-62, 1997.

HOFER, E.; REIS E.M.F. *Salmonella* serovars in food poisoning episodes recorded in Brazil from 1982 to 1991. **Rev. Inst. Med. Trop.**, v. 36, p. 7-9, 1994.

HUNTER, P.A.; REEVES, D.V. The current status of surveillance of resistance to antimicrobial agents: report on meeting. **J. Antimicrob. Chemother.**, v.49, p. 17-23, 2002.

IZAT, L.A.; KOPEK, J.M.; MCGINNIS, J.D. Research note: incidence, number, and serotypes fo *Salmonella* on frozen broiler chickens at retail. **Poult. Sci.**, v. 70, p. 1438-1440, 1991.

JAY, J.M. **Modern food microbiology**. 6. ed. Maryland: Aspen, 2000. 679p.

JONES, F.T.; AXTELL, R.C.; RIVES, D.V.; SCHEIDELER, S.E.; TARVER JR., F.R.; WALKER, R.L.; WINELAND, M.J. A survey of *Salmonella* contamination in modern broiler production. **J. Food Prot.**, v.54, p.502-507, 1991.

KELLEY, T.R.; PANCORBO, O.C.; MERKA, W.C.; BARNHARTS, H.M. Antibiotic resistance of bacterial litter isolates. **Poult. Sci.**, v.77, p.243-247, 1998.

KLARE, I.; BADSTUBNER, D.; KONSTABEL, C.; BOHME, G.; CLAUS, H.; WITTE, W. Decreased incidence of VanA-type van-comycin resistant enterococci isolated from poultry meat and fecal samples of humans in the community after discontinuation of avoparcin usage in animal husbandry. **Microb. Drug Resist.**, v.5, p.45-52, 1999.

KOPANIC JÚNIOR, R.J.; SHELDON, B.W.; WRIGHT, C.G. Cockroaches as vectors of *Salmonella* laboratory and field trials. **J. Food Prot.**, v.57, n.2, p. 125-132, 1994.

LE JUNE, J.T.; CHRISTIE, N.P. Microbiological quality of ground beef from conventionally – reared cattle and " raised without antibiotics" label claims. **J. Food Prot.**, v.67, n.7,p. 1433-1437, 2004.

LEE, L.A.; THREATT, V.L.; PUHR, N.D.; LEVINE, P.; FERRIS, K.; TAUXE, R. V. Antimicrobial – resistance *Salmonella* spp. isolated from healthy broiler chickens after slaughter. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.202, p.752-755, 1993.

LILLARD, H.S. The impact of commercial processing procedures on the bacterial contamination and cross-contamination of broiler carcasses. **J. Food Prot.**, v. 53, p.202-204, 1990.

MACHADO FILHO, L.C.P.M.; HÖTZEL, M.J. Bem estar dos suínos. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE SUINOCULTURA, 2000, São Paulo. **Anais...** Concórdia: 2000. p. 70-82.

MALOMY, B.; SCHROETER, A.; HELMUTH, R. Incidence of quinolone resistance over the period 1986 to 1998 in veterinary *Salmonella* isolates from Germany. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v.43, p.2278-2282, 1999.

MATHEUS, D.P.; RUDGE, A.C.; GOMES, S.M.M - Ocorrência de *Salmonella* spp em carne de frango comercializada no município de Bauru, SP, Brasil. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**,v.62, n.2, p.111-115, 2003.

MIKOLAJCZYK, A.; RADKOWSKI, M. *Salmonella* spp. on chicken carcasses in processing plants in Poland. **J. Food Prot.**, v.65, n.9, p.1475-1479, 2002.

MORSE E.V.; DUNCAN M.A. Salmonellosis an environmental health problem. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.165, p.1015-1019, 1974.

MOTARJEMI, Y.; KÄFERSTEIN, F. Food safety, hazard analysis and critical control points and the increase in foodborne disease: a paradox? **Food Control.**, v. 10,n.4/5, p.325-333, 1999.

NUNES, I.A. **Salmonella enteritidis**: fagotipos, susceptibilidade a drogas antimicrobianas e epidemiologia molecular baseada na sonda complementar ao rRNA. 1999. 119f. Tese (Doutorado) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

OLIVEIRA, S.D.; FLORES, F.S.; DOS SANTOS, L.R.; BRANDELLI, A. Antimicrobial resistance in *Salmonella enteritidis* strains isolated from broiler carcasses, food, human and poultry-related samples. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 97, p. 297-305, 2005.

PANTOSTI, A.; DEL GROSSO, M.; TAGLIABUE, S.; MACRI, A.; CAPRIOLI, A. Decrease of vancomycin-resistant enterococci in poultry meat after avoparcin ban (letter). **Lancet**, v.354, p.741-742, 1999.

PALERMO NETO, J. A questão dos resíduos de antimicrobianos em avicultura: verdade ou protecionismo europeu? **Rev. CFMV**, n. 28/29, p. 25-31, 2003.

PERESI, J.T.M.; ALMEIDA, I.A.Z.C.; LIMA, S.I.; FERNANDES, S.A.; TAVECHIO, A.T.; GELLI, D.S. *Salmonella*: determinação de sorotipos e resistência a agentes antimicrobianos de cepas isoladas de carcaças de frango comercializadas na região de São José do Rio Preto – SP. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v.58, n.1, p.41-46, 1999.

PIDDOCK, L.J. Fluoroquinolone resistance: overuse of fluoroquinolones in human and veterinary medicine can breed resistance. **Br. Med. J.** v.317, p.1029-1030, 1998.

PINTO, J.P.A.N.; CATANEO, A.; LANDGRAF, M.; DESTRO, M.T.; FRANCO., B. D. G.M. Use of three rapid detection systems to evaluate the prevalence and dissemination of *Salmonella* in a brazilian poultry slaughterhouse. **J. Rapid Methods Autom. Microbiol.** v.11, n.4, p.245-263, 2004.

POPPE, C.; SAMRT, T.; KHAKHRIA, R.; JOHNSON, W.; SPIKA, J.; PRESCOTT, J. *Salmonella typhimurium* DT 104: a virulent and drug-resistant pathogen. **Can. Vet. J.**, v. 39, p.559-565, 1998.

PRESCOTT, L.J.V.; BAGGOT, J.D.; WALKER, R.D. **Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine**. Iowa: Iowa State University Press. 2000.

RICE, D.H.; HANCOCK, D.D.; BESSER., T.E. Verotoxigenic E. Coli O157 colonisation of wild deer and range cattle. (Letter). **Vet. Rec.**,v.137, p.524, 1995.

RICE, D.H.; Mc.MENAMIN, K.M.; PRITCHETT, D.D.; HANCOCK, D.D.; BESSER, T.E. Genetic subtyping of Escherichia coli O157 isolates from 41 Pacific Northwest USA cattle farms. **Epidemiol. Infect.**,v. 122, p.479-484, 1999.

SANTOS, D.M.S., BERCHIERI JUNIOR, A., FERNANDES, S.A., TAVECHIO, A.T., AMARAL, L.A. *Salmonella* em carcaças de frango congeladas. **Pesqui. Vet. Bras.**, v.20, p.39-42, 2000.

SILVA. J.A. Microrganismos patogênicos em carne de frangos. **Hig. Aliment.**, v. 12, n. 58, p. 9-14, 1998.

SILVA, E.N.; DUARTE A. *Salmonella* Enteritidis em Aves: Retrospectiva no Brasil. **Rev. Bras. Ciênc. Avícola**, v.4 , n.2, p.85-100, 2002.

SINGER, R.; FINCH, R.; WEGENER, H.C.; BYWATER, R.; WALTERS, J.; LIPSITCH, M. Antibiotic resistance – the interplay between antibiotic use in animals and human beings. **Lancet Infect. Dis.** v.3, p.47-51, 2003.

SHACKELFORD, A.A. Modifications of processing methods to control *Salmonella* in poultry. **Poult. Sci.**, n.67, p. 933-935, 1988.

SHARP, J.C.M.; REILLY, W. J. Recent trends in foodborne infections in Europe and North America. **Br. Food J.**, v.96, p.25-34, 1994.

SNARY, E.L.; KELLY, L.A.; DAVISON, H.C.; TEALE, C.J.; WOOLDRIDGE, M. Antimicrobial resistance: a microbial risk assessment perspective. **J. Antimicrob. Chemother.**, v.53, p. 906-917, 2004

SOARES, F.L. **Utilização de ácidos orgânicos na redução da carga microbiana de carcaças de frango.** 1997. 42f. Tese (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Centro de Tecnologia, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

TAUXE, R.V. *Salmonella*: a postmodern pathogen. **J. Food Prot.**, v.54, p.563-568, 1991.

TAVECHIO, A.T.; FERNANDES, S.A ; NEVES, B.C., DIAS, A.M.G.; IRINO. K. Changing patterns of *Salmonella* Enteritidis in São Paulo, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo.**, v.38, p.315-322, 1996.

TAVECHIO, A.T.; YONAMINE, E.K.; GHILARDI, A.C.R.; DO VALLE, G.R.F.; ARRUDA, A.C.; IRINO. K.; FERNANDES, S.A. Resistência antimicrobiana de sorotipos de *Salmonella* isolados no estado de São Paulo no período de 1996 a 1999. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 1999, Salvador. **Anais...** Salvador, 1999. p. 86.

TESSARI, E.N.C.; CARDOSO, A.L.S.P.; CASTRO, A.G.M.; ZANATTA, G.F. Prevalência de *Salmonella* Enteritidis em carcaças de frango industrialmente processadas. **Hig. Aliment.** v. 17, n. 107, p. 52 – 55, 2003

THRELFALL, E.J.; WARD, L.R.; SKINNER, J.A.; ROWE, B. Increase in multiple antibiotic resistance in nontyphoidal *Salmonellas* from humans in England and Wales: a comparison of data for 1994 and 1996. **Microb. Drug Resist.**, v.3, p.263-266,1997.

VAN DEN BOGAARD, A.E.; BRUINSMA, N.; STOBBERINGH.; E.E. The effect of banning avoparcin on VRE carriage in the Netherlands. **J. Antimicrob. Chemother.**, v.46, p.146-147, 2000.

VAN DEN BOGAARD, A.E.; STOBBERINGH, E.E. Antibiotic usage in animals. Impact on bacterial resistance and public health. **Drugs**, v.58, p.589-607, 1999.

VAN DEN BOGAARD A.E.; STOBBERINGH E.E. Epidemiology of resistance to antibiotics. Links between animals and humans. **Int. J. Antimicrob. Agents**, v.14, p. 327-335, 2000.

VAN PELT, W.; VAN DER ZEE, H.; WANNET, W.J.B.; VAN DE GIESSEN, A.W.; MEVIUS, D.J.; BOLDER, N.M.; KOMIJN, R.E.; VAN DUYNHOVEN, Y.T.H.P. Explosive increase of *Salmonella* Java in the Netherlands: consequences for public health. **Eurosurveillance**, v.8, p.31-35, 2003.

VELDMAN, A.; VAHL, H.A.; BORGGREVE, G.J.; FULLER, D.C.A survey of the incidence of *Salmonella* species and *Enterobacteriaceae* in poultry feeds and feed components. **Vet. Rec.**, v.136, n.7, p.169-172, 1995.

WEGENER, H.C. Antibiotics in animal feed and their role in resistance development. **Curr. Opin. Microbiol.**, v.6, p.439-445, 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Department of Communicable Disease Surveillance and Response. **WHO global principles for the containment of antimicrobial resistance in animals intended for food**. Geneva, 2000. Disponível

em: <[http://www.who.int/emc/diseases/zoo/who\\_global\\_principles/index.htm](http://www.who.int/emc/diseases/zoo/who_global_principles/index.htm)>

Acesso em: 20 jul. 2003.

WIERUP, M. The Swedish experience of the 1986 year ban of antimicrobial growth promoters , with special reference to animal health, disease prevention, productivity, and usage of antimicrobials. **Microb. Drug Resist.**, v.7, p.183-190, 2001.

WILSON, I.G. Antimicrobial resistance of *Salmonella* in raw retail chicken, imported chicken portions, and human clinical specimens. **J. Food Prot.**, v.67, n.6, p.1220-1225, 2004.

WINOKUR, P.L.; VONSTEIN, D.L.; HOFFMAN, L.J.; UHLENHOPP, E.K.; DOERN, G.V. Evidence for transfer of CMY- 2 AmpC betalactamase plasmids between *Escherichia coli* and *Salmonella* isolates from food animals and humans. **Antimicrob. Agents Chemother**, v. 45, p. 2716-2722, 2001.

WITTE, W. Medical consequences of antibiotic use in agriculture. **Science**, v. 279, p. 996-997, 1998.

WITTE, W.; TSCHAPE, H.; KLARE, I.; WERNER, G. Antibiotics in animal feed. **Acta Vet. Scand.**, suppl. 93, p.37-45, 2000.