

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias

Presença residual de coliformes totais e *Salmonella* sp., em granjas de terminação de suínos após vazio sanitário.

Dissertação de Mestrado

Alessandra Blacene Sella*

PORTO ALEGRE
2008

Médica Veterinária

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias

Presença residual de coliformes totais e *Salmonella* sp., em granjas de terminação de suínos após vazio sanitário.

Alessandra Blacene Sella*

Dissertação apresentada como
requisito para a obtenção do grau de
Mestre em Ciências Veterinárias
Especialidade na área de Bacteriologia

Orientadora: Profa. Dra. Marisa Ribeiro de
Itapema Cardoso

PORTO ALEGRE
2008

Médica Veterinária

Alessandra Blacene Sella

Presença residual de coliformes totais e *Salmonella* sp., em granjas de terminação de suínos após vazio sanitário.

Aprovada em de 2008.

APROVADA POR

Profa. Dra. Marisa R. I. Cardoso
Orientadora e Presidente da Comissão

APROVADA POR

Dra. Jalusa Deon Kich
Membro da Comissão

APROVADA POR

Dra. Virgínia Santiago Silva
Membro da Comissão

APROVADA POR

Dr. Luìs Gustavo Corbellini.
Membro da Comissão

AGRADECIMENTOS

À Professora Dra. Marisa Ribeiro de Itapema Cardoso, pela confiança e orientação;
pela amizade e ensinamentos ao longo da Graduação e Mestrado.

Aos Colegas do laboratório de Medicina Veterinária Preventiva, pela amizade,
companheirismo e auxílio dos integrantes da “equipe Preventiva”.

A todos, muito obrigado.

RESUMO

Os procedimentos de limpeza e desinfecção são pontos chave na prevenção da contaminação por *Salmonella* sp. No entanto, pouco se conhece a respeito da eficácia de protocolos de limpeza e desinfecção adotados em granjas de terminação de suínos. Desta forma, este estudo teve como objetivo avaliar o nível de contaminação residual de Coliformes Totais e *Salmonella* sp. em granjas de terminação de suínos, e fazer um levantamento dos protocolos de manejo, instalações e práticas de desinfecção mais utilizados durante o período de vazio dessas granjas. Foram amostradas 71 granjas de terminação integradas a cinco agroindústrias, localizadas no Rio Grande do Sul. Em cada granja, foi aplicado um questionário contendo itens relativos à estrutura e manejo das instalações. Para a análise microbiológica, suabes do piso das baias foram colhidos e submetidos à quantificação de Coliformes Totais e pesquisa de *Salmonella*. A contagem de Coliformes Totais encontrada nas granjas variou de 6×10^2 ufc/cm² até $4,33 \times 10^9$ ufc/cm². Mesmo em granjas integradas a uma mesma empresa houve grande variabilidade na presença de coliformes residuais após a limpeza e desinfecção. *Salmonella* sp. esteve presente em 26,7% do total de granjas amostradas, com variação de frequência entre as agroindústrias (0 até 100% das granjas). Observou-se também grande diferença em termos de instalações e práticas de manejo adotadas, o que poderá servir para explicar a contaminação residual numa análise de risco futura. A partir disso, é possível concluir que os protocolos de limpeza e desinfecção adotados nas granjas são pouco eficazes, pois a contagem residual de Coliformes Totais é muito elevada e permitem a presença residual de *Salmonella* sp.

Palavras Chave: *Salmonella*, suínos, contaminação residual das granjas.

ABSTRACT

Cleaning and disinfection practices are the basis of Salmonella control on swine farms. In spite of that, little is known about the effectiveness of the cleaning and disinfection methods used on finishing pig farms. The aim of this study was to evaluate the level of coliform and Salmonella residual contamination on finishing farms, and to assess the practices and disinfection protocols adopted in the all in/all out management. Samplings were conducted in 71 farms associated to five swine companies located in Rio Grande do Sul. On each farm a questionnaire, including issues about building facilities and management, was conducted. Pen floor swabs were taken and submitted to coliform enumeration and Salmonella isolation. Coliform counts ranging from 6×10^2 ufc/cm² to 4.33×10^9 ufc/cm² were found on the sampled farms. Even farms associated to a same company presented a high variation on the coliform counts after cleaning and disinfection. Salmonella sp. was isolated in 26.7% of sampled farms, with a variation on the frequency (0 to 100%) according to the company. A high variability was also detected on the building facilities and management practices adopted. These data can be used in the future to conduct a risk factors analysis. In conclusion, the cleaning and disinfection practices adopted in the sampled farms are little effective, since a high residual coliform counts, and the persistence of Salmonella were detected on the pen floor.

Key words: *Salmonella, swine, residual contamination on farm.*

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Contagens média, mínima e máxima de Coliformes Totais e número de baias com presença de <i>Salmonella</i> sp. em granjas de terminação de suínos integradas a cinco agroindústrias no Rio Grande do Sul.	31
TABELA 2	Contagem de Coliformes Totais em baias com presença de <i>Salmonella</i> sp. de granjas de terminação de suínos integradas a quatro agroindústrias no Rio Grande do Sul.	36
TABELA 3	Distribuição de algumas características de instalação e manejo de granjas de terminação de suínos integradas a cinco agroindústrias no Rio Grande do Sul.	37

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	09
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	11
2.1 Importância da suinocultura	11
2.2 Caracterização da <i>Salmonella</i> sp.	12
2.3 Patogenia da infecção por <i>Salmonella</i> em suínos.....	13
2.4 Fontes de infecção	15
2.5 Diagnóstico.....	16
2.6 Presença de <i>Salmonella</i> sp. em suínos no Sul do Brasil.	18
2.7 Vazio sanitário e desinfecção	20
Presença residual de coliformes totais e <i>Salmonella</i> sp. em granjas de terminação de suínos após vazio sanitário	25
RESUMO	26
ABSTRACT	27
INTRODUÇÃO.....	28
MATERIAL E MÉTODOS.....	29
Isolamento de <i>Salmonella</i> sp.....	29
Quantificação de coliformes totais.. ..	30
Análise de dados.....	30
RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38
ANEXO I	38
ANEXO II	42

1 INTRODUÇÃO

O suíno destaca-se entre as espécies de produção, sendo a carne mais consumida no mundo. No mercado globalizado de alimentos, a demanda por produtos seguros têm sido cada vez mais freqüente, além de ser uma das exigências de regulamentos nacionais e internacionais para comercialização. Nesse contexto, a presença de *Salmonella* sp. nos produtos de origem animal, além da importância para a Saúde Pública tem representado uma barreira à comercialização de produtos. Essa realidade é evidente na cadeia produtiva de frango e tem sido sentida de forma crescente na suinocultura, a partir do momento em que a competição por novos mercados tem aumentado.

Existe um consenso que o controle de *Salmonella* precisa ser efetuado por meio de medidas que abranjam toda a cadeia produtiva. Em relação à presença de *Salmonella* em rebanhos suínos do Sul do Brasil, estudos têm demonstrado que os animais já chegam infectados no abatedouro, tornando fundamental a busca por medidas de intervenção possíveis de serem implementadas nas granjas, para alcançar um menor número de animais portadores ao abate.

Vários estudos têm sido conduzidos para identificar fatores de risco associados a elevados índices de prevalência de animais portadores. Observa-se uma variação nos fatores apontados, de acordo com a fase zootécnica, o tipo de manejo, a área geográfica e o tipo de abordagem adotada no estudo. Entretanto, os fatores relacionados com a biossegurança e a higiene costumam aparecer como importantes variáveis explicativas em quase todas as pesquisas.

Assim, é possível supor que a limpeza e a desinfecção são pontos-chave para reduzir a contaminação por *Salmonella* sp. e outros microrganismos patogênicos em granjas de suínos. Medidas eficazes nesse sentido precisam ser associadas ao período de vazio sanitário, uma vez que *Salmonella* sp. caracteriza-se por ter capacidade de um longo período de sobrevivência no ambiente. Por essa razão, estudos já referiram que o manejo todos dentro/todos fora isoladamente não é capaz de eliminar a contaminação residual por essa bactéria, se não forem adotados protocolos eficazes de desinfecção.

Há poucos estudos avaliando a eficácia das medidas de limpeza e desinfecção adotadas em granjas de suínos, principalmente em relação à contaminação residual por

Salmonella sp. antes do alojamento de novos lotes. Da mesma forma, observa-se que os protocolos e princípios ativos adotados variam de acordo com as empresas integradoras e que raramente são monitoradas quanto à sua execução e resultados obtidos.

Da mesma forma, a determinação de fatores de risco para a ocorrência de contaminação residual é pouco encontrada na literatura. Na fase de creche, estudo conduzido em Santa Catarina identificou a contaminação residual das baias por *Salmonella* sp. e apontou a presença de moscas, trilhas de ratos e demora na limpeza como fatores de risco para esse evento.

Na fase de crescimento e terminação estudos anteriores encontraram elevados índices de granjas com contaminação residual e identificaram esse fato como determinante para a contaminação de lotes alojados. Apesar disso, a ampliação de estudos sobre o nível de contaminação residual e a determinação de fatores de risco para sua ocorrência em granjas de terminação ainda precisam ser conduzidas.

Desta forma, o estudo realizado teve como objetivos conhecer as condições das granjas de terminação de suínos em diferentes agroindústrias, observando as suas peculiaridades quanto às características estruturais e de manejo, e avaliar a presença de contaminação residual por *Salmonella* sp. e coliformes, como uma etapa inicial da análise de risco.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Importância da Suinocultura.

As exportações brasileiras de carne suína “in natura” e industrializada atingiram 53.465 toneladas em novembro de 2007, aumento de 1,77% sobre as 52.535 toneladas embarcadas no mesmo período de 2006, segundo a Associação Brasileira da Indústria Produtora e Exportadora de Carne Suína (ABIPECS, 2007). No acumulado do ano, os embarques cresceram 12,2%, de 484.309 toneladas para 543.511 toneladas, este aumento nas exportações indica o rumo da manutenção da demanda pelo produto nacional (ABIPECS, 2007).

Em 2007, a Rússia continuou como maior mercado para a carne suína brasileira, ao comprar 44,5% do volume ante 52% em 2006, mas houve aumento concomitante de volume para outros mercados (ABIPECS, 2007). Para 2008, as perspectivas são positivas por conta da reabertura do mercado russo para Santa Catarina, maior produtor nacional, e do avanço do processo de abertura de outros mercados, como Chile, México, China e Japão.

A salmonelose transmitida por alimentos é considerada um dos mais importantes problemas de Saúde Pública, tanto nos países em desenvolvimento como nos países desenvolvidos (Jakabi *et al.*, 1999). Conforme Hald e Wegener (1999), entre as fontes de infecções humanas por *Salmonella*, 40-45% são provenientes de ovos e 10-15% de produtos suínos. A carne suína é responsável por aproximadamente 15% de todos os casos de salmonelose em humanos na Dinamarca e Holanda e por 25% nos USA (HALD *et al.*, 2004).

Existe uma demanda, principalmente entre os consumidores dos países industrializados, quanto à segurança dos produtos de origem animal (BLAHA, T., 2001). O risco de surtos de *Salmonella* sp. em humanos, tendo origem a carne suína, está presente, uma vez que vários produtos derivados da carne suína não sofrem tratamento térmico, dependendo de sua completa ausência na matéria prima. Dessa forma, avaliações consistentes para aprimorar a confiança de consumidores em produtos suínos, incluindo o

monitoramento e controle de *Salmonella* sp. em cada estágio da produção são importantes para garantir a qualidade e a confiança nesses alimentos (BLAHA, 1996).

2.2 Caracterização de *Salmonella* sp.

O gênero *Salmonella* está incluído na família *Enterobacteriaceae* e é composto por bacilos gram-negativos, anaeróbios facultativos, móveis por flagelos peritríquios, com exceção dos sorovares Gallinarum e Pullorum (WILCOCK E SCHWARTZ, 1993; HOLT *et al.*, 1994). São organismos quimiotróficos, apresentando metabolismo tanto respiratório como fermentativo (HOLT *et al.*, 1994). A partir da fermentação de D-glicose e outros carboidratos produzem ácido e gás (JAY, 1992; TORTORA *et al.*, 1993). Geralmente não fermentam a lactose (CLARKE E GYLES, 1993). São indol negativos e produzem ácido sulfídrico (HOLT *et al.*, 1994).

A temperatura ótima para crescimento é 37⁰C (FRANCO E LANDGRAF, 1996), porém podem multiplicar-se na faixa entre 7⁰C a 45⁰C. São resistentes à dessecação e ao congelamento, possuindo a capacidade de sobreviver no ambiente por anos (WILCOCK E SCHWARTZ, 1993). No entanto são sensíveis à luz solar e à maioria dos desinfetantes como fenóis, clorados e iodados (SOBESTIANSKY *et al.*, 1999). O crescimento de *Salmonella* sp. ocorre em um pH ótimo entre 6,5 e 7,5, admitindo uma variação entre 4,5 e 9,0. Valores inferiores a 4,1 inativam *Salmonella* sp. (TORTORA *et al.*, 1993).

Em décadas passadas, a taxonomia e a nomenclatura foram amplamente debatidas. Atualmente, o gênero *Salmonella* consiste de três espécies: *Salmonella enterica* dividida em seis subespécies, *Salmonella bongori* e, recentemente, *Salmonella subterranea* que representa uma nova espécie do gênero *Salmonella*, apresentando 96,4% dos nucleotídeos idênticos à *Salmonella bongori*. No aspecto bioquímico há alguma diferença como a produção de indol e a não-formação de H₂S (SHELOBOLINA *et al.*, 2004; HEYNDRICKX *et al.*, 2005; TINDALL *et al.*, 2005).

Atualmente, existem mais de 2.500 sorovares identificados de *Salmonella* sp. com vasta distribuição na natureza (POPOFF, M.Y.; BOCKEMÜHL, L.; GHEESLING, L.L., 2003), podendo estar presentes no trato gastrointestinal de diversos animais, incluindo peixes, répteis, pássaros e mamíferos (HIRSH, D.C., 1990; CLARKE, R.C.; GYLES,

C.L.,1993). O número de sorovares identificados de *Salmonella* vem aumentando a cada ano, por exemplo, em 1999, 26 novos sorovares foram incluídos, em 2000 e 2001, 12 e 22 novos sorovares, respectivamente, foram identificados e acrescentados ao esquema de Kauffmann-White (POPOFF, M.Y.; BOCKEMÜHL, J.; BRENNER, F.W., 2000; POPPOF, M.Y. et al., 2001).

Os sorovares, por sua vez, são agrupados de acordo com os antígenos somáticos presentes em sorogrupos. Segundo Doyle e Cliver (1990), o Manual Bergey classifica as salmonelas em 50 sorogrupos, identificados por letras do alfabeto (A, B, C₁, C₂, D e assim por diante), sendo que 98% dos sorovares identificados pertencem aos 12 primeiros grupos.

Epidemiologicamente existem sorovares de *Salmonella* sp. que são adaptados a um hospedeiro específico, tais como: *S. Typhi*, para humanos, *S. Choleraesuis*, para suínos, *S. Dublin*, para bovinos (SCHWARTZ, 2000) e *S. Pullorum* e *Gallinarum*, para aves (SNOEYENBOS e WILLIAMS, 1991). Outros sorovares, como a *S. Typhimurium* e *S. Enteritidis* infectam um grande número de hospedeiros, tendo importante papel na disseminação da salmonelose entre diferentes espécies (HIRSH, 1990).

2.3 Patogenia da infecção por *Salmonella* sp. em suínos

A infecção por *Salmonella* em suínos pode acarretar doença clínica, causando enterite, em casos de infecção por *S. Typhimurium* e causando septicemia, em casos de infecção por *S. Choleraesuis*. No entanto, as síndromes clínicas, causadas por sorovares adaptados, não são o principal motivo de preocupação da infecção nesta espécie (VAN DER GAAG, *et al.*, 2003). As questões relacionadas à segurança dos alimentos e presença dos sorovares não-adaptados de *Salmonella* sp. em produtos cárneos de origem suína assumem maior relevância na atualidade (FUNK, DAVIES e NICHOLS 2001).

A infecção por *Salmonella* ocorre pela via fecal-oral, sendo que, de maneira geral, após a chegada da bactéria no intestino há uma invasão de células M e de enterócitos por meio de um rearranjo do cito-esqueleto dessas células, induzido por proteínas efetoras secretadas pela bactéria. Durante esse processo, há uma atração de neutrófilos para o local, mediada pela IL-8, seguida da infiltração dessas células na lâmina própria. Uma hora após

infecção, as salmonelas alcançam a porção basal da célula e são fagocitadas por macrófagos e neutrófilos (SANTOS *et al.*, 2003).

Enquanto em macrófagos há aparentemente indução de apoptose, os neutrófilos parecem sofrer uma maior atração para o sítio da infecção e ocorre uma massiva resposta inflamatória local. A liberação de proteases e outras mediadoras das células inflamatórias resulta em necrose da mucosa, levando à diarreia e excreção da bactéria no ambiente (SANTOS *et al.*, 2003). Em seguida, as bactérias migram para o sistema reticulo-endotelial pelas vias linfática e sanguínea e voltam a ser excretadas quando o animal for submetido a fatores estressantes (EKPERIGIN e NAGAJARA, 1998; OHL e MILLER, 2001).

O trato gastrointestinal dos suínos conta com mecanismos de resposta imune inata como a acidez estomacal, peptídeos antimicrobianos, o muco que recobre as microvilosidades do epitélio, a ação peristáltica do intestino e a exclusão competitiva decorrente da relação entre as bactérias da microbiota intestinal (TUCKER e PICKARD, 2004). Entretanto, a mais importante forma de proteção é representada pelas respostas imunes celular e humoral (KRAEHENBUHL e NEUTRA, 1992).

Os microorganismos que conseguem colonizar o epitélio ou invadir as células da camada epitelial e eventualmente ultrapassá-la, encontrarão mecanismos de defesa relacionadas com a imunidade celular (neutrófilos, macrófagos, células dendríticas) e a imunidade humoral (GALVIN, HARRIS e WANNEMUEHLER, 1997; MOWAT, 2005) provenientes dos tecidos linfóides associados à mucosa, que se apresentam como Placas de Peyer no intestino delgado ou linfonodos isolados na mucosa e, no cólon, como agregados de linfonodos (TUCKER e PICKARD, 2004).

A maioria dos microorganismos intestinais contata as células do sistema imune após um trânsito através de células M, que podem ser definidas como células naturalmente fagocíticas da superfície intestinal e cuja principal função é a amostragem de antígenos da luz intestinal e sua apresentação a macrófagos da submucosa. As células M localizam-se, principalmente, nas áreas próximas às placas de Peyer. A apresentação constante de antígenos pelas mesmas leva à estimulação de células do sistema imune localizadas nos folículos das placas de Peyer (MOWAT, 2005). Nos seus centros germinativos estão principalmente células B que, ao se diferenciar em plasmócitos, vão produzir

principalmente imunoglobulinas tipo A (IgA). Além dessa, existe a secreção de citocinas pelas células T *helper* (Th) CD4⁺, que influenciam e regulam a diferenciação de linfoblastos localizados no centro germinal. Na região interfolicular o predomínio é de células CD3⁺. Nos folículos linfóides, há um pequeno número de células apresentadoras de antígenos (células dendríticas e macrófagos) e um maior número de linfócitos T CD4⁺ / CD8⁺. Esses linfócitos T CD4⁺ / CD8⁺, presentes na região interfolicular, determinam respectivamente, 65% e 25% das células CD3⁺ que são as precursoras das células citotóxicas (GALVIN, HARRIS e WANNEMUEHLER 1997). As células CD4⁺ têm sido divididas funcionalmente em células Th1 que secretam interferon gama (IFN- γ) e interleucina 2 (IL-2) e em células Th2, que secretam as citocinas IL-4, IL-5 e IL-6. De maneira geral, considera-se que as células Th1 são responsáveis pela indução da imunidade celular e as Th2 pela imunidade humoral (PARHAM, 2001).

A função primária das células CD4⁺ é auxiliar as células B a produzir anticorpos. Nas placas de Peyer do intestino, há um número aproximadamente igual de células CD4⁺ Th1 e Th2, enquanto que na lâmina própria há um predomínio do tipo Th2 (PARHAM, 2001).

As principais imunoglobulinas responsáveis pela defesa da mucosa intestinal dos suínos são da classe IgA. As suas funções biológicas primárias são a inibição da aderência de bactérias, neutralização viral e exclusão imune de antígenos solúveis (PIVA, KNUDSEN e LINDBERG, 2001).

2.4 Fontes de infecção.

Segundo Wilcock e Schwartz (1992), os principais fatores de risco relacionados à infecção por salmonelas são a exposição a roedores, alimentos contaminados e suínos portadores, além de fatores estressantes como o transporte e superlotação das baias. Outros fatores relevantes apontados têm sido a mistura de animais de diferentes origens (LETELLIER *et al.*, 2001), a falta de higiene nas baias dos suínos e a preparação da alimentação dos animais na granja (SCHWARTZ, 2000). Da mesma forma, a utilização de ração peletizada demonstrou associação positiva com soro-positividade nos estudos de Lo Fo Wong *et al.* (1999). Em relação à associação com síndromes clínicas, Van Der Wolf *et*

al. (2001) identificaram a correlação do aumento da prevalência, com diagnóstico prévio de enterite por *S. Typhimurium*.

O estresse do transporte e o jejum pré-abate têm sido registrados como fator desencadeante da excreção da *Salmonella* sp. pelos portadores (ISACCCSON *et al.*, 1999). Assim sendo, pode ocorrer infecção dos animais em contato durante o transporte e espera pré-abate, já que *Salmonella* sp. pode invadir o íleo em duas horas após a transmissão fecal-oral (MCKEAN, 2002). Dessa forma, a presença de *Salmonella* sp. em caminhões e baias de espera dos frigoríficos pode influenciar a prevalência deste microorganismo encontrada nos suínos durante o abate (VAN DER WOLF *et al.*, 1999).

A infecção por *Salmonella* sp. possui um grande potencial de amplificação ao longo da cadeia produtiva, uma vez que animais portadores contaminam o lote, bem como os animais que entram em contato no transporte para o abate e os novos grupos de animais no local de espera no abatedouro (ROSTAGNO *et al.*, 2003). Portanto, o incremento do índice de animais infectados e a maior prevalência ao abate determinarão que o risco de contaminação de carcaças (extravasamento de conteúdo intestinal, contaminação cruzada) e produtos (contaminação cruzada, utilização de linfonodos no processamento de alimentos) será amplificado em grau semelhante (BERENDS *et al.*, 1996).

2.5. Diagnóstico

A prevalência de *Salmonella* pode ser medida por testes bacteriológicos e sorológicos e pode ser avaliada em grupos de animais de diferentes idades (VAN DER GAAG *et al.*, 2003).

Para identificar rebanhos positivos, segundo Ehlers (2002), a pesquisa de *Salmonella* em pool de fezes de suínos é uma das formas mais adequadas. O isolamento bacteriológico é específico, ou seja, o organismo de interesse é identificado (FUNK, J. A.; DAVIES, P. R.; NICHOLS, M. A. 2000), e constitui-se numa ferramenta valiosa e, até o momento, insubstituível, considerada a importância das informações epidemiológicas obtidas. Para alcançar melhores resultados de isolamento bacteriológico é recomendada uma metodologia que consiste de três estágios: pré-enriquecimento, enriquecimento seletivo e isolamento seletivo. O pré-enriquecimento tem o objetivo de aumentar a população e

recuperar as células lesadas. O enriquecimento seletivo visa inibir a microbiota acompanhante e promover a elevação preferencial da população de *Salmonella*, enquanto o isolamento seletivo tem por objetivo promover o desenvolvimento diferencial de colônias de *Salmonella*, com características típicas para posterior confirmação bioquímica e sorológica (VARNAM, A H.; EVANS, M. G., 1991).

Michael *et al.* (2003) compararam diferentes meios de cultura utilizados no isolamento de *Salmonella* sp. a partir de fezes de suínos, encontrando melhor desempenho quando utilizados os caldos Rappaport-Vassiliadis e tetrionato Müller-Kauffmann incubados a 42°C, associados ao ágar XLT4 e ágar Verde Brilhante, Lactose Sacarose (BPLS) para o isolamento.

Juntamente com o isolamento bacteriológico, ferramentas que permitem quantificar o título de anticorpos presentes no soro dos animais, como o teste de ELISA, têm auxiliado na determinação do momento de infecção dos rebanhos. Nielsen *et al.* (1995) desenvolveram um teste de ELISA indireto para a detecção de IgG anti-LPS de *S. Typhimurium* e *S. Infantis*. Segundo os autores, o denominado mix-ELISA seria capaz de detectar anticorpos contra os antígenos somáticos (O: 1, 4, 5, 6, 7, 12) dos sorovares mais importantes nas infecções de rebanhos suínos. No Brasil, Kich *et al.* (2004) desenvolveram um teste de ELISA baseado no LPS de *S. Typhimurium*, o qual demonstrou ser capaz de detectar anticorpos contra os sorovares mais prevalentes em suínos no sul do Brasil.

Segundo Van Der Wolf *et al.* (2001) o uso do teste de ELISA para estabelecer a soroprevalência de *Salmonella* em granjas de suínos tem várias vantagens, dentre elas, a fácil padronização entre estudos e países e a maior sensibilidade do teste. Pelo fato do período de soroconversão (níveis de anticorpos detectáveis após infecção) ser de aproximadamente duas semanas (VAN DER GAAG *et al.*, 2003), a determinação da prevalência em um curto espaço de tempo não é precisa (HURD *et al.*, 2002), pois nem sempre representa o “status” atual do rebanho (SWANENBURG *et al.*, 2001). Outra limitação do ELISA é não poder ser utilizado como teste individual, uma vez que nem todos os suínos soroconvertem após inoculação ou enquanto excretam *Salmonella* nas fezes (NIELSEN *et al.*, 1995).

De forma geral, rebanhos suínos podem ser classificados como negativos e positivos para *Salmonella* baseado nos resultados do ELISA, utilizando amostras de sangue coletadas na linha de abate. Já o isolamento bacteriológico de fezes e de linfonodos pode identificar a excreção (FUNK, DAVIES e NICHOLS, 2001). A combinação de testes sorológicos e bacteriológicos pode gerar informações sobre o momento provável da infecção: na granja, ou durante transporte e na espera (SWANENBURG *et al.*, 2001a). Porém, a correlação entre os resultados de ambos os testes é baixa, devida à dependência do momento da infecção, parâmetros de excreção e título de anticorpos presentes no soro (GALLAND *et al.*, 2000).

Apesar disso, o maior número de animais que chegam sorologicamente positivos ao abate é diretamente proporcional ao maior número de animais excretando *Salmonella* no frigorífico e à contaminação de carcaças (FEDORKA-CRAY, McKEAN e BERAN, 1997).

Para conhecer a contaminação ambiental, fator importante na biossegurança das granjas, podem ser utilizados os microorganismos indicadores. Microorganismos indicadores são utilizados na avaliação da qualidade microbiológica da água (FORSYTHE, 2002) e também para determinar a qualidade sanitária de alimentos. Por meio dessa avaliação, podem ser verificadas a possível contaminação fecal e a presença de patógenos, assim como as condições sanitárias do processamento, produção e estocagem (BANWART, 1989). Análises de indicadores são amplamente utilizadas para mensurar a sanitização imprópria (FDA-CFSAM, 2001). Fazem parte desse grupo os coliformes totais, coliformes fecais, as bactérias aeróbias mesófilas, psicrofílicas, estafilococos, entre outros (FORSYTHE, 2002).

Os coliformes são um grupo de enterobactérias presentes nas fezes, no ambiente, no solo e na superfície de vegetais, animais e utensílios. É composto por bactérias da família *Enterobacteriaceae* e é um indicador da qualidade higiênico-sanitária do alimento (RODRIGUES *et al.*, 2003). São capazes de fermentar a lactose com produção de gás quando incubados a 35-37°C por 48 horas. Fazem parte desse grupo, entre outros, os gêneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*, sendo que somente a *Escherichia coli* tem como habitat primário o trato intestinal dos animais. Os demais, além de serem encontrados nas fezes, também estão presentes em outros ambientes, onde persistem por tempo superior ao de bactérias patogênicas de origem intestinal.

2.6. Presença de *Salmonella* sp. em suínos no Sul do Brasil

Estudo de prevalência realizados no Rio Grande do Sul encontrou 55,6% de suínos portadores de *Salmonella* sp. em amostras de fezes e linfonodos mesentéricos colhidos ao abate (BESSA *et al.*, 2004). Posteriormente, outro estudo demonstrou que 88% de amostras de massa de embutidos (CASTAGNA *et al.*, 2004) e 50% de cortes de pernil (BANDEIRA, 2003) produzidos em frigorífico, onde a prevalência de animais portadores era elevada, tinham a presença de *Salmonella* sp.

Tendo em vista que os suínos podem ser infectados por *Salmonella* em até 30 minutos de uma exposição mínima ao agente (HURD *et al.*, 2002a), a alta prevalência de isolamento de *Salmonella*, encontrada nesse estudo, poderia estar relacionada à infecção dos animais nas baias de espera (ISAACSON *et al.* 1999, ROSTAGNO *et al.*, 2003, KORSAC *et al.*, 2003) e ao efeito do estresse de manejo e ao transporte no período pré-abate (ROSTAGNO *et al.*, 2002). Porém, investigação sorológica conduzida por Kich *et al.* (2004) em 65 granjas terminadoras no sul do Brasil, reportou uma prevalência de 57,6% (I.C. 50-60%) de animais positivos no teste de ELISA-LPS, demonstrando que os lotes já estavam infectados antes do transporte ao abate.

Outros estudos conduzidos no sul do Brasil (SILVA *et al.*, 2003; MÜLLER, 2005), apontaram a fase de terminação como frequentemente relacionada com a infecção dos rebanhos suínos, a exemplo do que foi também descrito por Letellier *et al.* (1999) em rebanhos canadenses. Em estudo longitudinal conduzido por Silva *et al.* (2003), os leitões, em um sistema de produção avaliado, eram negativos para *Salmonella* sp. em testes sorológicos e bacteriológicos nas fases de maternidade e creche. Porém, na primeira coleta realizada na terminação (80 dias de idade), 28,6% (16/56) foram soropositivos e 75% (42/56) estavam excretando *Salmonella*. Ao abate, houve um aumento na soroprevalência 20/26 (77%), e 5/26 (19%) animais tiveram isolamento de *Salmonella* no conteúdo intestinal e/ou linfonodos mesentéricos.

Segundo Müller *et al.* (2005), é evidente a importância da fase de terminação na infecção dos lotes por *Salmonella* sp., bem como na amplificação do problema, o que pode levar à chegada de animais positivos ao abate. Ao lado disso, Müller *et al.* (2005)

constataram a existência de granjas com contaminação residual por *Salmonella sp.* no ambiente. De acordo com Berends *et al.* (1996), o problema “*Salmonella*” está relacionado com o fato deste microrganismo poder sobreviver e multiplicar-se fora do hospedeiro, contribuindo para a manutenção do ciclo fecal-oral. Nas superfícies de materiais como madeira, concreto, ferro e aço, a *Salmonella* pode sobreviver por um período que pode variar de alguns dias até nove meses, contaminando lotes que sejam alojados posteriormente. Da mesma forma, o ciclo fecal-oral determina que a infecção não fique restrita ao indivíduo disseminando-se por todo o lote.

Estudos de análise de risco representam uma das principais ferramentas no controle da infecção por *Salmonella sp.* nos rebanhos e têm sido descritos em diversas realidades de manejo. Kich *et al.* (2004) conduziram um estudo transversal onde fatores associados à prevalência de suínos sorologicamente positivos para *Salmonella* nos estados de Santa Catarina e do Rio Grande do Sul foram identificados. Sessenta e cinco granjas foram visitadas uma semana antes do abate dos animais para aplicação de questionário e coleta de sangue. Por meio de análise fatorial de correspondência múltipla de variáveis explicativas (respostas do questionário) e explicada (soroprevalência), foi possível identificar a associação da maior soroprevalência com o seguinte conjunto de variáveis nas granjas terminadoras: uso de ração peletizada, distribuição de dejetos a menos de 100m do local de captação de água, não utilização de comedouro do modelo comedouro/bebedouro, transporte com freteiro misturando animais de várias granjas. Já nas granjas de ciclo completo, ingredientes de ração desprotegidos de outros animais, ausência de controle de roedores, ração seca, ausência de cerca, não uso da pintura com cal após lavagem e desinfecção e a entrada de outras pessoas, além do técnico, na granja foram os fatores de risco encontrados.

2.7. Vazio Sanitário e desinfecção

Nos sistemas de produção de suínos há procedimentos para interromper a cadeia de contaminação por microrganismos indesejáveis entre os lotes. Entre esses procedimentos, as práticas de limpeza e desinfecção são componentes críticos e indispensáveis para o

controle de patógenos no ambiente, estando fortemente associadas a tipo de manejo, características e qualidade das instalações, condição sanitária dos suínos e natureza dos patógenos circulantes na população. A principal origem da contaminação do ambiente de criação é a própria população alojada, pela excreção das bactérias entéricas patogênicas e comensais nas fezes, as quais podem refletir a condição de saúde dos suínos, especialmente nas fases precoces da produção.

O ambiente apresenta, freqüentemente, alta taxa de recuperação de *Salmonella* sp., indicando uma possível persistência da contaminação, fazendo com que as granjas apresentem ciclos de recontaminação com linhagens próprias de *Salmonella* sp. (BERENDS, et al., 1996). As amostras ambientais não são a única fonte de infecção para os suínos, mas as mesmas podem estar envolvidas na contaminação de lotes subseqüentemente alojados, caso medidas de limpeza adequadas não sejam tomadas (LETELLIER et al., 1999). Estudos demonstram que suínos podem ser infectados por *Salmonella* após expostos ao ambiente contaminado por um período de apenas duas horas (HURD et al., 2001). Assim, aspectos relacionados à limpeza e desinfecção adequadas, tornam-se de grande importância no controle da contaminação por *Salmonella* sp.

Uma limpeza prévia das instalações antes da aplicação dos desinfetantes tem por finalidade a obtenção de superfícies limpas, uma vez que a maioria dos desinfetantes são inativados pela matéria orgânica. Sua presença sobre as superfícies dificulta ou até mesmo torna impossível a penetração dos desinfetantes em todas as frestas onde possam alojar-se os microrganismos. Dessa maneira, uma limpeza prévia permite uma ação direta do produto sobre os agentes causadores de doença (SOBESTIANSKY et al., 1999). Segundo os mesmos autores, aumentar a dose do produto desinfetante não irá compensar a falta de uma limpeza prévia.

Adicionando um detergente à água de lavagem, assegura-se um máximo de impregnação e limpeza, visto que estas substâncias têm ação umedecedora e surfactante que, quando adicionadas na água, reduzem a tensão superficial, aumentando a capacidade de penetração da água e o poder de remoção da sujeira aderida no piso, nos equipamentos e nas paredes de uma instalação. Além disso, eles têm efeito emulsificante, dissolvendo e, sobretudo, saponificando as gorduras, impedindo que as mesmas voltem a se depositar sobre as superfícies (HUBER, 1992).

A desinfecção consiste na eliminação de microrganismos indesejáveis de materiais inanimados limpos, através de processos químicos ou físicos, que atuam sobre a estrutura ou o metabolismo desses microrganismos, independentemente de seu estado funcional (VIEIRA, 1985).

As medidas de higiene e segurança sanitária na produção animal, abordadas pelo Código Zoosanitário Internacional, demonstram que há poucos desinfetantes universais, e que é preciso controlar a atividade dos produtos existentes no mercado. É preciso avaliar a eficácia dos produtos, utilizando a amostra do microrganismo de interesse e a concentração recomendada pelo fabricante (KICH, *et al.* 2004)

Agentes desinfetantes são substâncias usadas para controlar, prevenir ou destruir microrganismos prejudiciais (bactérias, fungos) e inativar vírus em objetos inanimados ou superfícies. É importante salientar que o processo de desinfecção não equivale à esterilização ou à limpeza (GREZZI, G., 2007).

A desinfecção completa somente pode ser executada após a retirada dos animais das instalações. Assim, somente obtêm-se o máximo de ação do desinfetante, uma vez que a ausência de animais e de equipamentos permita que o produto tenha um contato direto com os microrganismos e tempo suficiente para agir (SOBESTIANSKY *et al.*, 1999).

O tempo de ação dos desinfetantes depende essencialmente da temperatura e da natureza da superfície, visto que nenhum desinfetante tem efeito instantâneo. Portanto, quanto mais baixa for a temperatura da superfície, maior deve ser o tempo necessário para a ação, visto que temperaturas baixas diminuem o efeito dos desinfetantes, assim como superfícies lisas, principalmente paredes verticais, em função da aderência dos desinfetantes ser menor, os quais ficam com sua ação prejudicada em função do baixo tempo de contato (SOBESTIANSKY *et. al*, 1999).

Os desinfetantes não são igualmente eficientes quando usados como bactericidas, fungicidas ou viricidas, assim como diferenças em sua ação também ocorrem entre espécies dentro de grupos de microrganismos, visto que alguns desinfetantes destroem apenas determinadas categorias deles. Em face disso, como forma de aumentar a eficácia da desinfecção, tem sido recomendada a rotação de desinfetantes visando aumentar o espectro de atividade e para evitar a seleção de microrganismos patogênicos e não patogênicos que servirão de reservatório de genes de resistência. A periodicidade recomendada para a troca

de desinfetante varia de três a seis meses e depende do plano de limpeza e desinfecção adotado (HUBER, 1992).

A qualidade da água utilizada é importante tanto para limpeza como para desinfecção. A utilização de águas poluídas causa uma diminuição da eficácia do desinfetante, uma vez que parte dele é consumida para desinfetar a água de diluição antes da solução ser aplicada sobre as superfícies. Assim, a carga de matéria orgânica, a dureza e o pH da água podem interferir sobre a eficiência do desinfetante empregado (SOBESTIANSKY et. al., 1998).

O conhecimento do material ou superfície que se pretende desinfetar, quanto à presença de matéria orgânica, tipo de material, e das características químicas e biocidas dos desinfetantes é de muita importância para a escolha do melhor produto a ser utilizado. Vários princípios ativos estão disponíveis no mercado, os mais utilizados na suinocultura têm sido os compostos de amônia quaternária, glutaraldeído, e fenólicos.

Os compostos de amônia quaternária são largamente utilizados como anti-sépticos e desinfetantes, devido à sua ação surfactante e à baixa toxicidade, aliado ao seu poder microbicida. Esses compostos são considerados antimicrobianos de pequeno espectro de ação, por agirem sobre bactérias não esporuladas, fungos e vírus com envoltório lipídico, inativando-os, não sendo, porém capazes de inativar esporos bacterianos, micobactérias e vírus sem envelope (MCDONELL; RUSSEL, 1999).

A atividade antimicrobiana dos compostos de amônia quaternária foi descoberta por Domagk em 1935 (MIYAGI et al., 2000). A partir de então, esses compostos passaram a ter grande importância comercial, sendo sintetizados inúmeros derivados, com toxicidade e espectro de ação diversos (MERIANOS, 1991).

Os compostos quaternários de amônia causam desnaturação e precipitação das proteínas de membrana celular e citoplasma, quebram complexos lipoprotéicos da célula bacteriana liberando enzimas autolíticas e, em geral, combinam-se facilmente com proteínas, gorduras e alguns fosfatos e têm alto poder de adsorção na parede celular, onde exercem sua função antibacteriana. Os derivados mais comuns da amônia quaternária (*quats*) são cloreto de benzalcônio, cloreto de benzetônio, cloreto de metilbenzetônio, cloreto de cetildimetil-benzilamônio e cloreto de cetilpiridínio (HUBER, 1992). Os *quats* têm um alto poder bacteriostático, potencializado pela formação de filmes ou películas

sobre a superfície, com poder residual longo, por mais lisas que sejam estas superfícies (WIEST, 1984).

Cardoso (2000), verificou em estudo sobre a eficácia de desinfetantes sobre amostras de *S. Enteritidis* que produtos a base de amônia quaternária eram ineficazes frente a 79/80 amostras testadas. De forma oposta, Borowsky et al. (2006) encontraram bom desempenho desse grupo frente a 96 amostras de *S. Typhimurium*, resultado semelhante obtido por Kich et al. (2004). Entretanto, nesse último estudo a eficácia dos quaternários de amônia foi severamente prejudicada pela adição de matéria orgânica ao ensaio.

O mecanismo de ação do glutaraldeído está fundamentado na alquilação de grupos amino e sulfídricos (-SH) de proteínas e do nitrogênio do anel da base púrica dos ácidos nucléicos (DNA e RNA) da célula bacteriana e, também, por poder interferir nas proteínas de membrana e do citoplasma das bactérias (PAULINO, 1996).

No estudo de Cardoso (2000) produtos comerciais à base de glutaraldeído não conseguiram inibir 35/80 amostras de *S. Enteritidis* no tempo de 5 minutos de contato, enquanto apenas quatro foram resistentes após 20 minutos de contato, demonstrando que o número de amostras resistentes foi influenciada pelo tempo de contato. O mesmo foi constatado por Kich et al. (2004), quando o tempo de 5 minutos não foi capaz de reduzir 4 \log_{10} na população de isolados de *S. Typhimurium* expostos, enquanto 15 minutos alcanço essa redução no mesmo grupo de isolados. Ao lado disso, também para esse desinfetante a adição de matéria orgânica determinou a perda de eficácia nos testes.

O fenol (ácido carbólico), foi descoberto no alcatrão há mais de 100 anos, sendo o primeiro anti-séptico usado por Lister em sua introdução à cirurgia asséptica. Atualmente, existem várias preparações comerciais derivadas do fenol, tais como clorofeno, ortofenilfenol, timol, triclosan, *p*-tert-aminofenol (HUBER, 1992).

Cardoso (2000), testando o grupo dos fenólicos frente a amostras de *S. Enteritidis*, constatou que esse desinfetante foi o que obteve o melhor resultado, inativando todos os isolados testados no tempos de 15 e 20 minutos de contato. Kich et al. (2004) também concluiu que esse grupo apresentava o melhor desempenho inclusive em tempo de exposição menor (5 minutos) e na presença de matéria orgânica.

Os compostos iodados são outros desinfetantes amplamente utilizados. O iodo e seus derivados causam desnaturação e precipitação de proteínas e oxidação de enzimas

essenciais, interferindo nas reações metabólicas vitais do microrganismo. O iodo também interage com ácidos graxos insaturados, alterando as propriedades de lipídios em seu papel de estabilização de membranas (PAULINO, 1996).

Na década de 50 a descoberta de que a associação de polivinil-pirrolidona com uma substância surfactante que poderia solubilizar o iodo deu início ao desenvolvimento de um novo grupo de germicidas e higienizadores, os iodóforos. Esses produtos são derivados de combinações de iodo com detergentes, agentes umedecedores, solubilizantes e outros carreadores que podem conter um nível tão elevado de iodo quanto 30% de seu peso, dos quais 70% podem ser liberados como iodo disponível quando a solução for diluída (HUBER, 1992).

A vantagem dos iodóforos, quando comparados às tinturas e soluções de iodo, é devido a sua maior estabilidade em temperatura ambiente, por serem menos inativados pela matéria orgânica e menos corrosivos para metais, além de manterem maior ação germicida residual e raramente ocasionam reações alérgicas (PAULINO, 1996).

Martinez et al. (1999), estudando a ação *in vitro* de 5 produtos desinfetantes compostos de iodo frente a amostras de salmonelas, verificou que todos os produtos foram eficientes quando utilizou apenas água destilada como diluente, já quando adicionou matéria orgânica (fezes, ração e cama), nenhum produto foi eficiente, demonstrando claramente que os produtos a base de iodo perdem sua ação germicida na presença de matéria orgânica.

Presença residual de coliformes totais e *Salmonella* sp, em granjas de terminação de suínos após vazio sanitário.

Sella A. ¹; Calveyra J. ¹; Santos, M.C. ¹; Cardoso M. ¹

¹Setor de Medicina Veterinária Preventiva – FAVET – UFRGS, Av. Bento

Gonçalves, 9090, CEP 91 540-000, POA-RS. CEP 91 540-000, POA - RS -

Brasil.

alessandrasella@pop.com.br

RESUMO

Os procedimentos de limpeza e desinfecção são pontos chave na prevenção da contaminação por *Salmonella* sp. No entanto, pouco se conhece a respeito da eficácia de protocolos de limpeza e desinfecção adotados em granjas de terminação de suínos. Desta forma, este estudo teve como objetivo avaliar o nível de contaminação residual de Coliformes Totais e *Salmonella* sp. em granjas de terminação de suínos, e fazer um levantamento dos protocolos de manejo, instalações e práticas de desinfecção mais utilizadas durante o período de vazio dessas granjas. Foram amostradas 71 granjas de terminação integradas a cinco agroindústrias, localizadas no Rio Grande do Sul. Em cada granja, foi aplicado um questionário contendo itens relativos à estrutura e manejo das instalações. Para a análise microbiológica, suabes do piso das baias foram colhidos e submetidos à quantificação de Coliformes Totais e pesquisa de *Salmonella*. A contagem de Coliformes Totais encontrada nas granjas variou de 6×10^2 até $4,33 \times 10^9$. Mesmo em granjas integradas a uma mesma empresa houve uma grande variabilidade na presença de coliformes residuais após a limpeza e desinfecção. *Salmonella* sp. esteve presente em 26,7% do total de granjas amostradas, com variação de frequência entre as agroindústrias (0 até 100% das granjas). Observou-se também grande diferença em termos de instalações e práticas de manejo adotadas, o que poderá servir para explicar a contaminação residual numa análise de risco futura. A partir disso, é possível concluir que os protocolos de limpeza e desinfecção adotados nas granjas são pouco eficazes, pois a contagem residual de Coliformes Totais é muito elevada e permitem a presença residual de *Salmonella* sp.

Palavras Chave: *Salmonella*, suínos, contaminação residual das granjas.

ABSTRACT

Cleaning and disinfection practices are the basis of Salmonella control on swine farms. In spite of that, little is known about the effectiveness of the cleaning and disinfection methods used on finishing pig farms. The aim of this study was to evaluate the level of coliforms and Salmonella residual contamination on finishing farms, and to assess the practices and disinfection protocols adopted in the all in/all out management. Samplings were conducted in 71 farms associated to five swine companies located in Rio Grande do Sul. On each farm a questionnaire, including informations about building facilities and management, was conducted. Pen floor swabs were taken and submitted to coliform enumeration and Salmonella isolation. Coliform counts ranging from 6×10^2 to 4.33×10^9 were found on the sampled farms. Even farms associated to a same company presented a high variation on the coliform counts after cleaning and disinfection. Salmonella sp. was isolated in 26.7% of sampled farms, with a variation on the frequency (0 to 100%) according to the company. A high variability was also detected on the building facilities and management practices adopted. These data can be used in the future for conducting a risk factors analysis. In conclusion, the cleaning and disinfection practices adopted in the sampled farms are little effective, since a high residual coliform counts, and the persistence of Salmonella were detected on the pen floor.

Key words: *Salmonella, swine, residual contamination on farm.*

INTRODUÇÃO

As boas práticas de produção e industrialização, associadas à demanda por alimentos seguros experimentam crescente prioridade no mercado de produtos de origem animal. A partir disso, microrganismos causadores de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) passaram não apenas a ter importância em saúde pública, mas também implicações no comércio internacional de alimentos. *Salmonella* sp. participa desse grupo de microrganismos monitorados, uma vez que é uma das bactérias mais frequentemente implicadas em surtos de DTAs reportados em vários países (Mead et al., 1999).

Estudos realizados anteriormente relataram o isolamento de *Salmonella* sp. em suínos ao abate (Bessa et al., 2004), em carcaças de produtos processados (Castagna et al., 2004) e em lingüiça frescal amostrada no comércio (Mürmann et al., 2007). Nos levantamentos conduzidos ao abate, os resultados de sorologia e isolamento indicaram que os animais sofrem a infecção na granja de origem, frequentemente durante o período de crescimento e terminação (Kich et al., 2005; Schwarz et al., 2006).

Entre os diversos fatores de risco apontados para o nível de animais soropositivos ao abate, aqueles relacionados à biossegurança foram os mais destacados (Kich et al., 2005). Muller *et al.* (2005) constataram a existência de contaminação residual por *Salmonella* sp. em granjas de terminação, demonstrando que o ambiente foi determinante para a conversão de lotes livres no momento do alojamento em lotes com elevada soroprevalência e excreção de *Salmonella* sp. ao abate.

A partir disso, o presente estudo teve por objetivo avaliar o nível de contaminação residual de granjas de terminação que executam manejo todos dentro/todos fora e fazer um levantamento dos protocolos de manejo, instalações e práticas de desinfecção mais utilizadas durante o período de vazio dessas granjas.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido no período de agosto de 2006 a agosto de 2007, em cinco agroindústrias, localizadas em diferentes regiões do Rio Grande do Sul. Foram amostradas 71 granjas de terminação de suínos representando diferentes condições de manejo produtivo, situação sanitária, linhagens genéticas e origem dos animais. As granjas foram visitadas durante o período de vazio sanitário após a lavagem e desinfecção das instalações, preferentemente em período próximo ao alojamento de novos lotes de animais. As visitas foram acompanhadas pelo veterinário ou pelo técnico da empresa.

Como primeira etapa, foi conduzido um questionário (Anexo 01) contendo variáveis associadas às características estruturais das instalações, manejo, limpeza e desinfecção. O questionário foi respondido pelo responsável pela granja ou, ainda pelo próprio técnico da empresa, enquanto os itens relacionados à conservação das instalações e presença de animais foram avaliados pela entrevistadora. Os itens relativos á piso e parede foram classificados de acordo com a presença de rachaduras e irregularidades da seguinte forma: bom, até 30% da superfície com defeitos; regular ou intermediária, de 40 a 70% da superfície com defeitos; ruim, 70% ou mais da superfície com defeitos.

Logo após, eram colhidos suabes do piso de 10% do número de baias existentes nas granjas. A coleta era feita com suabes previamente umedecidos em água peptonada tamponada 1% em uma área de aproximadamente 100 cm². Em cada baia eram feitos três suabes em regiões diferentes do piso (central e duas laterais). Os três suabes eram colocados num mesmo tubo contendo 10 mL de água peptonada tamponada, totalizando uma área amostrada de 300 cm².

As amostras colhidas foram identificadas conforme a granja de origem e enviadas ao laboratório, sob refrigeração. As amostras foram processadas individualmente, conforme a baia coletada, sendo submetidas a protocolo de isolamento de *Salmonella* sp. e quantificação de Coliformes Totais.

Isolamento de *Salmonella* sp.

As amostras foram submetidas ao protocolo de isolamento testado por Michael *et al.* (2003). Para tanto 9 mL da amostra foram pré-enriquecidas em 90mL de água peptonada

tamponada 1%, seguida de enriquecimento seletivo (Caldos Rappaport -Vassiliadis e Tetrionato, Merck) e isolamento em ágar Verde Brilhante Lactose-Sacarose (BPLS, Merck) e XLT4 (Difco). A seguir, colônias típicas selecionadas foram submetidas à confirmação por testes bioquímicos e aglutinação com soro polivalente somático (PROBAC). Os isolados confirmados como *Salmonella* sp. foram encaminhados para sorotipificação na Fundação Instituto Oswaldo Cruz.

Quantificação de Coliformes Totais

Foram feitas diluições seriadas de 10^{-1} até 10^{-12} em água peptonada 0,1% a partir das amostras colhidas. De cada diluição foi depositado 1 mL, em placas de Petri estéreis, em duplicata. Após, verteu-se, aproximadamente, 20 mL de Agar Violeta Bile Azul de Metileno (VRBGA; Oxoid) em cada placa, realizando-se imediatamente a homogeneização. Após a solidificação do meio, colocou-se uma sobrecamada do mesmo meio de cultura para criar um ambiente anaeróbio. As placas foram incubadas à 37°C por 24-48h. A leitura foi realizada contando-se as colônias típicas roxas-escuras (lactose positiva). As colônias contadas foram interpretadas como sendo Coliformes Totais, sendo sua quantificação obtida pela multiplicação do número de colônias pelo inverso da diluição onde foi realizada a contagem. Para calcular a contagem de Coliformes Totais por cm^2 de piso amostrado, dividiu-se a contagem obtida pelo fator 30, uma vez que cada mililitro da solução, onde haviam sido colocados os suabes colhidos, equivalem á 30 cm^2 de área amostrada ($300\text{cm}^2/10\text{mL}$ de água peptonada tamponada 1%), conforme Silva et al. (1997).

Nas granjas onde foram colhidos suabes em mais de uma baia, foi calculada a média das contagens obtidas nas amostras colhidas, sendo esse valor considerado a contagem de Coliformes Totais da granja.

Análise dos dados

Os resultados das análises microbiológicas, bem como as demais informações da granja de origem das amostras, foram analisados através de estatística descritiva.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As contagens de Coliformes Totais nas 71 granjas apresentaram uma amplitude elevada, com uma variação entre $1,8 \times 10^2$ a $8,6 \times 10^9$.UFC/ cm^2 nas amostras colhidas nas baias. A contagem de Coliformes Totais encontrada nas granjas, que equivale à média das contagens obtidas nas baias amostradas, variou de 6×10^2 até $4,33 \times 10^9$. Mesmo em granjas integradas a uma mesma empresa houve um intervalo expressivo entre as contagens mínimas e máximas obtidas (Tabela 1), indicando uma grande variabilidade na presença de coliformes residuais após a limpeza e a higienização das granjas.

Tabela 1 – Contagens média, mínima e máxima de Coliformes Totais e número de baias com presença de *Salmonella* sp. em granjas de terminação de suínos integradas a cinco agroindústrias no Rio Grande do Sul.

Empresa (número de granjas)	Coliformes Totais (UFC/ cm^2)				Granjas com presença de <i>Salmonella</i> sp.
	Mediana	Média	Mínimo	Máximo	
A (n=17)	$4,0 \times 10^6$	$4,7 \times 10^6$	$7,3 \times 10^2$	$7,3 \times 10^7$	0/17
B (n=21)	$9,6 \times 10^5$	$7,5 \times 10^7$	$1,2 \times 10^5$	1×10^9	5/21
C (n=18)	$6,0 \times 10^4$	$1,4 \times 10^5$	6×10^2	$9,3 \times 10^5$	4/18
D (n=6)	$7,5 \times 10^7$	$7,8 \times 10^8$	$3,6 \times 10^5$	$4,3 \times 10^9$	6/6
E (n=9)	$4,3 \times 10^7$	$9,1 \times 10^7$	$1,1 \times 10^5$	$2,2 \times 10^8$	9/9

Existem poucos dados publicados a respeito da eficácia da limpeza e desinfecção na diminuição da contaminação residual em granjas de suínos. Mannion et al. (2006) compararam as contagens obtidas em pisos de baias sujas e limpas em granjas de suínos da Irlanda e concluíram que as práticas de limpeza adotadas garantiam uma redução significativa das contagens de Coliformes Totais. Nesse estudo, as contagens em baias

limpas variaram de zero até $4 \log_{10}$ UFC/cm², valores abaixo das médias de todas as agroindústrias no presente estudo.

Não existe, no nosso conhecimento, um parâmetro estabelecido como aceitável em termos de contagens bacterianas após a limpeza e desinfecção em granjas de suínos. Na indústria de alimentos os níveis aceitáveis de mesófilos totais não ultrapassam 50 UFC/cm² (Silva Jr., 1996). Mesmo considerando, que os parâmetros para piso de baia ficariam bem acima desse índice, as médias e medianas encontradas no presente estudo permitem afirmar que a limpeza e desinfecção não foram adequadas na maioria das granjas amostradas.

Os protocolos de limpeza adotados incluíram o uso de desinfetantes pertencentes à princípios ativos amplamente utilizados na suinocultura (Tabela 3). Entretanto, se a etapa de desinfecção não foi precedida por uma remoção adequada da matéria orgânica presente no piso, é possível que tenha havido um prejuízo na eficácia do princípio ativo. Em estudo realizado "in vitro" Kich et al. (2004) demonstraram que, em presença de matéria orgânica, os desinfetantes a base de quaternário de amônia, iodóforo e glutaraldeído não foram capazes de reduzir a população de *Salmonella* sp. testada em $4 \log_{10}$, índice considerado aceitável (DEFRA, 2003).

As avaliações de contaminação residual demonstraram que *Salmonella* sp. também esteve presente em 26,7% do total de granjas amostradas. Esse índice é maior que o reportado para creches (15,71%) amostradas por Silva et al. (2006), o que pode ser justificado pelo maior rigor com que são conduzidos os protocolos de limpeza e desinfecção nas instalações de creche. Entretanto, esteve abaixo dos 41,67% reportados por Kich et al. (2005) ao amostrar pisos de granjas de terminação integradas a uma agroindústria em Santa Catarina. Por outro lado, ao considerar as agroindústrias separadamente, observa-se uma grande variabilidade nos resultados. Enquanto na agroindústria A não foi detectada a contaminação residual por *Salmonella* sp., nas agroindústrias D e E todas as granjas amostradas tinham ao menos uma baia positiva.

O gênero *Salmonella* tem longa persistência no ambiente, podendo permanecer viável por meses em matéria orgânica. Dessa forma, a desinfecção adequada, precedida pela remoção criteriosa de matéria orgânica deve ser a base de programas de controle nas granjas, uma vez que a persistência residual de *Salmonella* na instalação associada ao ciclo fecal-oral que ocorre após a infecção de animais alojados em baias

contaminadas foi apontada como responsável pela contaminação de lotes de suínos negativos (Muller et al., 2005, Kich et al., 2005).

Os isolados de *Salmonella* submetidos á sorotipificação foram identificados como *S. Derby* (n=18) e *S. Muenchen* (n=1). Mesmo considerando que foi sorotificado apenas um isolado obtido em cada granja positiva, chama a atenção o fato de a quase totalidade pertencer a apenas um sorovar. De forma contrária, estudos conduzidos em amostras colhidas de suínos ao abate e durante o alojamento nas granjas demonstraram o isolamento de múltiplos sorovares (Bessa et al., 2004, Castagna et al., 2004, Kich et al., 2005). *S. Derby* tem sido freqüentemente isolada de suínos (Bottledoorn et al., 2004; Bessa et al., 2004), dessa forma a hipótese que este sorovar possa ter uma maior capacidade de persistir no ambiente da granja precisa ser melhor investigada.

Não parece haver uma tendência de associação entre a média de Coliformes Totais encontrada na agroindústria e a freqüência de isolamento de *Salmonella* sp. nas granjas. Da mesma forma as contagens encontradas nas baias em que houve isolamento de *Salmonella* sp. (Tabela 2), não parece diferir das médias calculadas para a granja, ou das médias e medianas encontradas nas agroindústrias. Entretanto, como discutido anteriormente, as médias de Coliformes Totais encontradas foram muito elevadas em todas as agroindústrias, o que leva a supor que, se havia *Salmonella* sp. presente no lote alojado anteriormente ao vazio sanitário, o protocolo de limpeza e desinfecção adotado não obteve a redução de Coliformes Totais e não foi capaz de eliminar *Salmonella* sp.

Finalmente, ao analisar as características observadas nas granjas amostradas, observa-se uma grande variação em termos de instalações e práticas de manejo adotadas (Tabela 3), o que poderá servir para explicar a contaminação residual por Coliformes Totais e *Salmonella* sp., numa análise de risco futura.

Por outro lado, vários desses itens já foram apontados como fatores de risco para a infecção por *Salmonella* sp. em rebanhos suínos. Entre esses itens encontram-se: o controle de roedores e moscas (Kich et al., 2005; Silva et al., 2007), número de origens dos animais (Lo Fo Wong et al., 2004), tamanho do rebanho (Dahl, 1997; van der Wolf et al., 2001), o destino dos dejetos e a contaminação da fonte de água (Kich et al., 2005) e divisória entre baias que permitem contato dos animais (Lo Fo Wong et al., 2004).

No presente estudo, o número médio de animais alojados variou de 260 até 680, refletindo o tamanho das granjas visitadas. Estudos de fatores de risco reportam resultados conflitantes em relação ao número de animais alojados na granja. Em alguns estudos (Van der Wolf et al., 2001) o tamanho da granja é apontado como um fator de risco para a infecção por *Salmonella* sp. em suínos, provavelmente por estar associada a outros fatores como número de origens de animais, entrada de ração e manejo de instalações de maior porte. Entretanto, na maioria dos estudos esse fator não é citado, especialmente nos casos em que o maior tamanho da granja vem acompanhado de maior tecnificação e protocolos mais padronizados de manejo.

Em relação à densidade de animais alojados por baia, enquanto nas agroindústrias A, B e C a maioria das granjas apresentava até 20 animais em cada baia, nas granjas da empresa D e E esse número era bastante superior. Esse fator não costuma aparecer na maioria dos estudos realizados, uma vez que, em vários países, as regulamentações concernentes ao bem-estar animal limita o número de animais por baia (Lo Fo Wong et al., 2004). Entretanto, é possível supor que a maior densidade de animais contribui facilitando a disseminação da infecção e induz a um estado de estresse que induz a excreção de *Salmonella* sp. pelos portadores.

Comparando os itens levantados nos questionários conduzidos na agroindústria A, onde a contaminação residual por *Salmonella* não foi detectada, com os resultados das agroindústrias D e E com isolamento da bactéria em todas as granjas amostradas, observa-se que existem diferenças entre as condições de instalação e de manejo.

As granjas da empresa A são em média mais novas, apresentam instalações de concreto, com as divisórias na maioria das vezes compactas. Todas as instalações contam com forro, cortinas e telas. Em 76% das granjas não havia a presença visível de animais, como cães, gatos, pássaros, galinhas, no momento da visita. Todas as granjas realizam controle de ratos e moscas. Nas empresas D e E a construção predominante é do tipo mista e, no mínimo, na metade das granjas a divisória permite o contato de animais de baias diferentes. A maioria das granjas não apresenta forro e telas; nem todas realizam controle de roedores e moscas. Havia a presença de outros animais nos galpões, como pássaros, cães e galinhas.

As diferenças detectadas entre esses dois grupos de granjas podem estar influenciando na eficácia da desinfecção, uma vez que instalações mais novas e construídas com material de mais fácil limpeza auxiliam na remoção de matéria orgânica. Da mesma forma, a presença de barreiras para a entrada de animais (telas, forros) e programas de controle de roedores e vetores também podem diminuir a recontaminação das instalações após a desinfecção. Entretanto, todos esses fatores também podem levar a uma menor pressão de infecção por *Salmonella* sp. no lote de animais, resultando num menor nível de excreção e diminuindo a presença residual da bactéria no ambiente, o que também pode explicar a diferença encontrada.

A partir disso, é possível concluir que os protocolos de limpeza e desinfecção adotados nas granjas são pouco eficazes, pois a contagem residual de Coliformes Totais é muito elevada. Esse fato pode resultar igualmente na presença residual de *Salmonella* sp.

Tabela 2 - Contagem de Coliformes Totais em baias com presença de *Salmonella* sp. de granjas de terminação de suínos integradas a quatro agroindústrias no Rio Grande do Sul.

Empresa	Granja/Baia	Coliformes Totais na Baia (UFC/cm ²)	Média de Coliformes Totais na Granja (UFC/cm ²)
B	A1	1x10 ⁶	9,6x10 ⁵
	A2	1,2x10 ⁶	
	A3	6x10 ⁵	
	C1	1,4x10 ⁶	1 x10 ⁶
	D1	7,6x10 ⁵	7,0 x10 ⁵
	D2	6,6x10 ⁵	
	F1	8.6x10 ⁷	4,0 x10 ⁸
	F2	1,3x10 ⁷	
	H1	2,6x10 ⁹	1,0 x10 ⁹
	H2	4x10 ⁸	
C	B1	8x10 ⁴	8 x10 ⁴
	F1	1,5x10 ⁵	1,2 x10 ⁵
	G1	8,6x10 ⁴	
	H1	1,3x10 ⁵	8 x10 ⁴
D	A1	8.6x10 ⁹	7 x10 ⁶
	A2	5,3x10 ⁶	5x10 ⁵
	B1	1x10 ⁶	
	C1	1x10 ⁹	
	C2	1x10 ¹⁰	4,3 x10 ⁹
	C3	3x10 ⁸	
	D1	1,5x10 ⁶	3,6 x10 ⁵
	E1	1,3x10 ⁷	
	E2	2x10 ⁷	2 x10 ⁷
	E3	1,3x10 ⁶	
	F1	2,9X10 ⁸	
	F2	1X10 ⁷	2,8 x10 ⁸
	E	B1	1,5x10 ⁸
C1		3,3x10 ⁵	1,1 x10 ⁵
C2		8,3x10 ⁴	
C3		8,3x10 ⁴	
E1		2,6x10 ⁸	2,2 x10 ⁸
G1		3x10 ⁷	

Tabela 3 - Distribuição de algumas características de instalação e manejo de granjas de terminação de suínos integradas a cinco agroindústrias no Rio Grande do Sul.

Característica	Empresa (número de granjas visitadas)				
	A (n=17)	B (n=21)	C (n=18)	D (n=6)	E (n=9)
Número médio de animais	357	454	260	378	680
Número de animais/baia (%)					
até 20	100	76,2	72,2	0	0
20-40	0	19,0	27,8	33,3	88,8
>40	0	4,8	0	66,7	11,2
Vazio (dias)	5 – 15	10 - 21	7 – 15	2 – 10	10 -14
Granja fechada (dias)	3 – 15	3 - 21	0 – 4	1 – 10	1 – 14
Número de origens dos animais	1 – 4	1 - 3	1 – 10	2 – 6	1 – 2
Tipo de construção (%)					
Concreto	100	23	17	17	22
Madeira	0	19	6	16	0
Mista	0	57	77	67	73
Divisória (%)					
Compacta	88	28	28	50	33
Vazada	12	72	72	17	67
Mista	0	0	0	33	0
Estado de conservação do piso (%)					
Bom	82	81	6	66	33
Regular	17	19	66	17	55
Ruim	0	0	28	17	12
Forro na instalação (%)	100	14,3	0	0	0
Presença de tela (%)	100	19	100	33,3	11,1
Fossa cheia (%)	100	42,9	38,9	50,0	44,4
Presença de outros animais (%)	24	5	100	17	33
Controle de roedores (%)	100	100	38,9	66,7	88,9
Controle de moscas (%)	100	100	16,7	66,7	66,7
Origem da água (%)					
Poço	47,1	9,5	72,2	50,0	0
Fonte	52,9	42,9	44,4	50,0	100
Cloração da água (%)	76,5	90,5	50,0	100	44,4
Duração da limpeza (%)					
até 3 dias	41,2	14,3	52,9	100	88,9
3-6 dias	47,0	23,8	29,4	0	11,1
> 6 dias	11,8	61,9	17,7	0	0
Uso de cal (%)	18	85	100	67	56
Princípio ativo mais usado na desinfecção (%)	Fenólico (76%)	Quaternário de Amônia (52%)	Fenólico (100%)	Glutaraldeido (80%)	Peróxido (67%)

ANEXO I

Inquérito Epidemiológico Terminação

Data da aplicação do questionário: ____/____/____

Granja: _____

Nome do produtor: _____

Localidade _____

Município _____ **Estado** _____

Responsáveis pelo preenchimento do questionário _____

Questão	Resposta
1	Tamanho do plantel
2	Tipo de produção:
3	A granja possui funcionário exclusivo para a terminação?
4	Possui baia hospital
5	Idade recebimento animais:
6	Número de galpões:
7	Faz vazio:
8	Dejetos:
9	Qual a distância da unidade de terminação com outra instalação de suínos mais próxima?
10	Tipo de construção das instalações:
11	Área total da sala (largura e comprimento):
12	Pé direito:
13	Utiliza forro na sala?
14	Utiliza cortinas na sala?
15	Piso das baias:

16	Material do piso:	a) compacto: <input type="checkbox"/> cimento <input type="checkbox"/> madeira <input type="checkbox"/> outros, qual? b) vazado: <input type="checkbox"/> ferro <input type="checkbox"/> concreto <input type="checkbox"/> madeira <input type="checkbox"/> outro, qual?
17	Idade da granja	
18	Ração consumida na visita	
19	Nº de baias:	
20	Área das baias (largura e comprimento):	
21	Lotação: nº médio de leitões/baia?	
22	Estado de conservação do piso:	a) compacto: <input type="checkbox"/> bom (sem fendas, cavidades ou rachaduras). <input type="checkbox"/> regular (presença de pequenas rachaduras, cavidades ou fendas). <input type="checkbox"/> ruim (piso desgastado, com muitas rachaduras, cavidades e fendas) b) vazado: <input type="checkbox"/> bom (sem fendas, cavidades ou rachaduras). <input type="checkbox"/> regular (presença de pequenas rachaduras, cavidades ou fendas). <input type="checkbox"/> ruim (piso desgastado, com muitas rachaduras, cavidades e fendas)
23	Paredes: Natureza do material quanto a rugosidade das paredes:	<input type="checkbox"/> superfície lisa, sem cavidades <input type="checkbox"/> superfície com pequenas cavidades <input type="checkbox"/> superfície com grandes cavidades
24	Estado de conservação das paredes:	<input type="checkbox"/> bom, sem rachaduras, fendas ou cavidades <input type="checkbox"/> regular, com poucas rachaduras, fendas ou cavidades <input type="checkbox"/> ruim, (desgastada, com rachaduras, fendas ou cavidades)
25	Divisórias	Altura: <input type="checkbox"/> totalmente compacta, tipo de material <input type="checkbox"/> totalmente vazada, tipo de material <input type="checkbox"/> combinada: compacta m de comp vazada m de comp
26	Estado da pré fossa no dia visita:	<input type="checkbox"/> vazia <input type="checkbox"/> lavada <input type="checkbox"/> desinfetada <input type="checkbox"/> contendo dejetos. Qual a distância até o piso ripado? m

27	Presença de sujeira residual na sala:(1=limpo, 2=intermediário e 3=sujo)	() Piso () Parede () Corredor () Pré-fossa
28	Fez desinfecção dos corredores?	() não () sim, como?
29	Tempo de duração da limpeza:	
30	Limpeza seca da sala antes da desinfecção:	() com pá e vassoura () outros, quais?
31	Uso de material de limpeza (pá e vassoura):	() exclusivo da sala () exclusivo da unidade () usa em várias instalações.
32	Limpeza úmida antes da desinfecção:	() água sob pressão () água e vassoura ou escova () água sob pressão com vassoura ou escova
33	Utilização de detergente na limpeza da sala:	() sim, qual? como? () não
34	Desinfecção química:	() sim, vol/m ² () não
35	Desinfecção química:	Produto 1: Dose: ml/l Produto 2: Dose: ml/l Produto 3: Dose: ml/l
36	Equipamento usado para desinfecção:	() bomba costal () lava jato de alta pressão () outro:
37	Utiliza caiação:	() sim, antes da desinfecção () depois da desinfecção () () não
38	Apreciação geral da sala:	() bem conservada, com pintura e equipamentos em bom estado. () intermediária () ruim, sem conservação e desorganizada
39	Acesso de outros animais nas instalações:	() gatos () cães () galinhas caipiras () Pombos () Passarinhos () Outros, quais?
40	Presença de ratos ou trilhas nas instalações?	() sim () não
41	Presença de moscas na propriedade?	() insignificante () pouco () muito

42	Faz controle de roedores?	() não () sim, como?
43	Faz controle de moscas?	() não () sim, como?
52	Tipo de aberturas:	() Janelão () Cortina () Aberto
53	Manejo da sala durante o vazio sanitário:	Abre as salas durante o vazio? () não () sim, Quanto tempo sala e cortinas fechadas?
54	Tipo de bebedouro:	
55	Avaliação dos bebedouros na ocasião da visita:	() limpo () sujo
56	Tipo de comedouro:	
57	Avaliação dos comedouros na ocasião da visita:	() limpo () sujo
58	Número Origens Maternidade - Creche	
59	Número Origens Creche - Terminação	
60	Histórico Ocorrência Circovírus (a qto tempo)	
61	Usa vacina autógena contra circovírus	() não () sim, quando?
62	Mortalidade Terminação	
63	Maiores Problemas	() Respiratórios () Entéricos
64	Genética	
65	Usa cloro na água	() não () sim
66	Tela anti pássaros	() não () sim, Obs?
67	Fonte de água	

OBSERVAÇÕES:

ANEXO II

1. Protocolo de Avaliação e Controle de *Salmonella* sp.

Fase 1 – Detectar a presença de *Salmonella* sp. em baias de granjas de terminação durante o vazio sanitário.

Objetivo:

Verificar a presença de agentes bacterianos residuais em granjas de terminação de suínos, antes do alojamento de novos lotes de animais.

Delineamento Experimental:

Escolha de 10 UTs de diferentes origens;

De cada instalação escolhida para a amostragem, deverão ser colhidas amostras de aproximadamente 10% da metragem, através da aplicação de suabes.

Ex.: Galpão 10 X 100 (1000m²) com baias 4 x 4 (16 m²): Amostrar 100 m², ou seja, 6 baias. Deverão ser realizadas 3 amostras de 100cm² (quadrado de 10 X 10), através da raspagem com suabes de regiões do fundo da baia, centro e cocho. Em seguida, os três suabes de cada baia deverão ser colocados em um tubo com 10ml de água peptonada.

Na mesma visita à Unidade de Terminação, deverá ser aplicado um questionário (inquérito epidemiológico) a fim de implementar a avaliação de fatores de risco para a contaminação por *Salmonella* sp.

O material coletado será analisado no Setor de Medicina Veterinária Preventiva da UFRGS.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIPECS. **Relatórios anuais**. Disponível em: <<http://www.abipecs.org.br/relatorios.php>>. Acesso em: 20 ago. 2007.

BANDEIRA, R. **Presença de *Salmonella* sp. em suínos ao abate e em cortes de pernil processados em frigorífico do Rio Grande do Sul**. Dissertação (mestrado) – Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003.

BERENDS, B.R. *et al.* Identification and quantification of risk factors in animal management and transport regarding *Salmonella* spp. in pigs. **Food Microbiology**. v. 30, n. 1/2, p. 37-53, 1996.

BESSA, M. C.; COSTA, M.; CARDOSO, M. Prevalência de *Salmonella* sp. em suínos abatidos em frigoríficos do Rio Grande do Sul, Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 24, n. 2, p. 80-84, 2004.

BLAHA, T. The impact of *Salmonella* on the swine industry. In: SWINE CONFERENCE, 1996, Nebraska. **Proceedings...** Nebraska, 1996. p. 1-20.

BLAHA, T. H. Manejo da qualidade na granja, segurança alimentar no pré-abate e certificação da indústria suinícola. In: CONFERÊNCIA INTERNACIONAL VIRTUAL SOBRE QUALIDADE DA CARNE SUÍNA, 2., 2001, Concórdia. **Anais**. Concórdia: Embrapa, 2001. Disponível em: <www.cnpsa.embrapa.br/pork/anais00cv_blah_a_pt.pdf>. Acesso em 13 de fev. de 2006.

BOROWSKI, L.; SCHMIDT V.; CARDOSO, M. Estimation of most probable number of *Salmonella* in minced pork samples. **Brazilian Journal of Microbiology**, v38, p. 544-546, 2007

CARDOSO, M. O. **Avaliação da sensibilidade a antimicrobianos e eficiência de desinfetantes em amostras de *Salmonella* Enteritidis isoladas de carcaças de frangos no Estado do Rio Grande do Sul**. 108 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2000.

CASTAGNA, S. M. F. *et al.* Associação da prevalência de suínos portadores de *Salmonella* sp. ao abate e a contaminação de embutidos tipo frescal. In: CONGRESSO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 11., 2003, Goiânia. **Anais**. Goiânia, 2003.

CLARKE, R.C.; GYLES, C.L. *Salmonella*. In: GYLES, C.L.; CHARLES, O.T. **Pathogenesis of bacterial infections in animals** 2nd ed. Ames: Iowa State University, 1993. p. 133-153

DOYLE, M. P.; CLIVER, D. O. *Salmonella*. In: D.O. CLIVER, (Ed.). **Foodborne diseases**. London: Academic Press, 1990. p. 185-204.

EKPERIGIN H. E.; NAGARAJA K. V. *Salmonella*. **Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice**. v. 14, p. 17-29, 1998.

FEDORKA-CRAY, P.; McKEAN, J.D.; BERAN, G.W. Prevalence of *Salmonella* in swine and pork: A farm to consumer study. **ISU Swine Research Report**, 1997. Disponível em: <<http://www.extension.iastate.edu/Pages/ansci/swinereports/asl-1507.pdf>>. Acesso em: 07 jul. 2006.

FONSECA, M. F.C. **Cenários no SAA no século XXI**: algumas tensões e negociações encaradas pelo enfoque orgânico e agroecológico. Conferência virtual global sobre produção orgânica de bovinos de corte. embrapa, set./out. de 2002. Disponível em: <<http://ww.cpap.embrapa.br/agencia/congressovirtual/pdf/portugues/05pt02.pdf>>. Acesso em: 20 jul. 2003.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. 181p,

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

GALLAND, J. C. *et al.* Prevalence of *Salmonella* in beef feeder steers as determined by bacterial culture and ELISA serology. **Veterinary Microbiology**, v. 76, n. 2, p. 143 – 151, 2000.

GALVIN, J. E.; HARRIS, D. L.; WANNEMUEHLER, M. J. Prevention of intestinal spirochaetal disease: immunological and pharmacological mechanisms In: HAMPSON, D. J; STANTON, T .B. **Intestinal spirochaetes in domestic animals and humans**. Wallingford, UK: CAB INTERNATIONAL, 1997. cap. 13, p. 343-374.

GREZZI, G. **Limpeza e desinfecção na avicultura**. In: CONFERÊNCIA APINCO 2007 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS. p. 161-182, 2007. Cópia xerográfica.

HALD, T. ; WEGENER H. C. Quantitative assessment of the sources of human salmonellosis attributable to pork. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE EPIDEMIOLOGY AND CONTROL OF SALMONELLA IN PORK, 3., 1999, Washinton. **Proceedings...** Washington: IST World, 1999. p.200-205.

HALD, T. *et al.* A bayesian approach to quantify the contribution of animal-food sources to human salmonellosis. **Risk Analysis**, v. 24, n. 1, p. 255, Feb. 2004.

HEYNDRICKX, M. *et al.* Recent changes in *Salmonella* nomenclature: the need for clarification. **The Veterinary Journal**, v.170, p.275-277, 2005.

HIRSH, D.C. *Salmonella*. In: BIBERSTEIN, D.V.M.; ZEE, Y.C. **Review of veterinary microbiology**. Boston: Blackwell Scientific Publications, Inc., 1990. p. 110-115.

HOLT, J. G. *et al.* **Bergey's manual of determinative bacteriology**. 9th ed. Philadelphia: Williams & Wilkins, 1994. 787 p,

HUBER, G.W. Anti-sépticos e desinfetantes. In: BOOTH, N.H.; McDONALD, L.E. **Farmacologia e terapêutica em veterinária**. 6 .ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. cap. 47, p.617-632.

HURD, H.S. *et al.* The effect of lairage on salmonella isolation from market swine. **Journal of Food Protection**, v. 64, n. 7, p. 939-944, 2001

HURD, H. S. *et al.* Salmonella enterica infections in market swine with and without transport and holding. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n. 5, p. 2375 – 2381, 2002.

HURD, S. *et al.* Measuring *Salmonella* prevalence in finish swine; evaluation of three methods In: IPVS CONGRESS, 17., 2002, Iowa. **Proceedings**. Iowa: IPVS, p. 313. 2002.

ISAACSON, R. E. *et al.* The effect of feed withdrawal on the shedding of *Salmonella Typhimurium* by swine. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE EPIDEMIOLOGY E CONTROL OF *SALMONELLA* IN PORK, 3, 1999, Washington, **Proceedings...**, Urbana-Champaign: University of Illinois, 1999, p. 296-298.

JAKABI, M. *et al.* Observações laboratoriais sobre surtos alimentares de *Salmonella* sp., ocorridos na grande São Paulo, no período de 1994 a 1997. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 58, n. 1, p. 47-51, 1999.

KICH, J. D. **Desenvolvimento de um teste de ELISA-LPS para *Salmonella* e sua aplicação em rebanhos suíno na identificação de fatores de risco associados à infecção**. 2004, 112 f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

KICH, J. D *et al.* Avaliação da atividade antibacteriana de seis desinfetantes comerciais frente a amostras de *Salmonella Typhimurium* isoladas de suínos. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 32, p. 33-39, 2004.

KICH, J. D.; MORES, N.; PIFFER, I. *et al.* Fatores de risco associados com a prevalência sorológica de *Salmonella* em granjas comerciais de suínos no sul do Brasil. **Ciência Rural**, v.35, p. 398-405, 2005.

KRAEHENBUHL, J.P.; NEUTRA, M.R. Molecular and cellular basis of immune protection of mucosal surfaces. **Physiological Reviews**, v. 72, p. 853-879, 1992.

LETELLIER, A. *et al.* Distribution of *Salmonella* in swine herds in Québec. **Veterinary Microbiology**, n. 67, p. 299 – 306, 1999.

LETELLIER A, *et al.* Host response to various treatments to reduce *Salmonella* infections in swine. **Canadian Journal Veterinary Research**, v. 65, n. 3, p. 168–172, July 2001.

LO FO WONG, D. M. A. *et al.* Herd- level risk factors for the introduction and spread of *Salmonella* in Pigs Herds. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE EPIDEMIOLOGY AND CONTROL OF *SALMONELLA* IN PORK, 4., 1999, Washington. **Proceedings**. Urbana-Champaign: University of Illinois, 1999. 381p., p. 151-154.

LO FO WONG, D. M. A. ; HALD, T., VAN DER WOLF,P.J.; SWANENBURG, M. Epidemiology and control measures for *Salmonella* in pigs and pork. **Livestock Production Science**, v. 76, p. 215-222.

MADEC, F. *et al.* Measurement of the residual contamination of post-weaning facilities for pigs and related risk factors. **Journal of Veterinary Medicine Series B**, v. 46, p. 37-45, 1999.

MCCDONELL, G.; RUSSELL, A.D. Antiseptics and disinfectants: activity, action and resistance. **Clinical Microbiology Review**, n. 12, p. 147-179, 1999

MANNION, C.; LEONARD, F. C.; EGAN, J.; LINCH, P. B. The efficacy of cleaning and disinfection on pig farms. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM: SAFE PORK. 6., 2005. Rohnert Park, Califórnia: Community of International Business Related to Animal Production, 2005. p. 120-123. Cópia xerográfica.

MARTINEZ, F.; BERCHIERI Jr, A.; PAULILLO, A.C. Ação de desinfetantes sobre *Salmonella* na presença de matéria orgânica. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**. v. 1, p. 17-25, jan./abr., 1999.

M EVOY, J. M. *et al.* Microbial contamination on beef in relation to hygiene assessment based on criteria used in EU Decision 2001/471/EC. **International Journal of Food**, v. 92, p. 217-225.

MERIANOS, J.J. Quaternary ammonium antimicrobial compounds. In: BLOCK, S.S. **Disinfection, Sterilization and Preservation**. 4th ed. Philadelphia: Lea e Febiger, 1991. p. 225-253.

McKEAN, J. D. *et al.* The prevalence of food-borne pathogenic organisms in swine and pork: A pilot survey and demonstration project from production farm to dressed carcasses. **ISU Swine Research Report**, 2002. Disponível em: <<http://www.extension.iastate.edu/ipic/reports/00swinereports/asl-693a.pdf>>. Acesso em: 26 jun. 2007.

MICHAEL, G. B.; CARDOSO, M.; COSTA, M. Comparison of different selective enrichment steps to isolate *Salmonella* sp. from feces of finishing swine. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 34, p. 138–142, 2003.

MIYAGE, F.; TIMENETSKY, J.; ALTERTHUM, F. Avaliação da contaminação bacteriana em desinfetantes de uso domiciliar. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 34, n. 5, p. 444-448, out. 2000.

MOWAT, A. M. Dendritic cells and immune responses to orally administered antigens. **Vaccine**, v. 23, p. 1797-1799, 2005.

MÜLLER, M. **Comparação da presença de suínos portadores de *Salmonella* sp. no início da fase de terminação e ao abate, em três granjas do Rio Grande do Sul.** 2005. x f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

MÜRMAN, L. et al. Análise de risco quantitativa da presença de *Salmonella* sp. em lingüiça frescal suína: dados preliminares. In: CONGRESSO DA ABRAVES, 13. 2007, **Anais**. Florianópolis- SC: ABRAVES 2007.

NIELSEN, B. *et al.* The serological response to *Salmonella* serovars typhimurium and infantis in experimentally infected pigs: the time course followed with an indirect anti-LPS ELISA and bacteriological examinations. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v.47, p. 205-218, 1995.

OHL, M. E.; MILLER, S. I. *Salmonella*: a model for bacterial pathogenesis. **Annual Review Medicine**, v.52, p. 259-274, 2001.

PARHAM, P. **O sistema imune.** Porto Alegre: Artes Médicas, 2001. p. 43- 68.

PAULINO, C.A. Anti-sépticos e desinfetantes. In: SPINOSA, H.S.; GÓRNIK, S.L.; BERNARDI, M.M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996, cap. 35. p. 367-378.

PIVA A.; KNUDSEN B. K. E. **Gut environment of pigs.** Nottingham University Press, 2001. p. 3-53.

POPOFF, M.Y.; BOCKEMÜHL, J.; BRENNER, F.W. Supplement 1999 (n°43) to the Kauffmann-White scheme. **Research in Microbiology**, v.151, p.893-896, 2000.

POPOFF, M.Y. *et al.* Supplement 2000(n°44) to the Kauffmann-White scheme. **Research Microbiology**, v.152, p.907-909. 2001.

POPOFF, M. Y.; BOCKEMUHL, J.; GHEESLING. L.L. Supplement 2001 (n° 45) to the Kauffamann: white scheme. **Research in Microbiology**, v. 154, p. 173-174. 2003.

RHO, M. J. et al. Monitoring of microbial hazards at farms, slaughterhouses and processing lines of swine in Korea. **Journal of Food Protection**, v. 64, p. 1388-1391, 2001.

ROSTAGNO, M. *et al.* *Salmonella* infection in market swine during pre-slaughter holding In: IPVS CONGRESS, 17, 2002, Iowa. **Proceedings**. Iowa: IPVS, 2002. p. 319.

ROSTAGNO, M. *et al.* Preslaughter holding environment in pork plants is highly contaminated with *Salmonella enterica*. **Applied Environmental Microbiology**, v. 69, p. 4489-4492, 2003.

SANTOS, R. L. *et al.* Pathogenesis of *Salmonella*-induced enteritis: a review. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 36, n. 1, p. 2-13, 2003.

SCHWARTZ, K. J. Salmonellosis. In: STRAW, B. E. *et al.* (Ed.). **Diseases of swine**. 8th ed. Ames: Iowa State University Press, 2000. cap.39, p. 535-551.

SCHWARZ, P. *et al.* The correlation between serology and isolation of *Salmonella* in pigs at slaughter in southern Brazil. In: SAFE PORK: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE EPIDEMIOLOGY AND CONTROL OF FOODBORNE PATHOGENS IN PORK, 6., 2005, **Proceedings...** Rohnert Park, Califórnia: Community of International Business Related to Animal Production, 2005p. 292-293, 2005. 1 CD-ROM.

SILVA L. E. *et al.* Longitudinal study of *Salmonella* infection in pigs. In: SAFE PORK: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE EPIDEMIOLOGY AND CONTROL OF FOODBORNE PATHOGENS IN PORK, 5., 2003, Crete, Greece. **Proceedings...** Crete, Greece : [S.n.], 2003. p. 250-252,.

SNOEYENBOS, G. H.; WILLIAMS, J. E. Salmonellosis. In: CALNEK, B. W. (Ed.). **Diseases of poultry**. 9th ed. Ames: Iowa State University Press, 1991, p. 72-73.

SOBESTIANSKY, J. *et al.* **Clínica e patologia suína**. Goiânia: Editora, 1999. p. 383-387.

SWANENBURG, M. *et al.* Salmonella in slaughter pigs: prevalence, serotypes and critical control points during slaughter in two slaughterhouses. **International Journal of Food Microbiology**, v. 70, n. 3, p. 243-254, 2001.

SWANENBURG, M. *et al.* *Salmonella* in slaughter pigs: the effect of logistic slaughter procedures of pigs on the prevalence of *Salmonella* in pork. **International Journal of Food Microbiology**, v. 70, n. 3, p. 231-242, 2001.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Introducción a la microbiología**. 3. ed. Zaragoza: Acribia, 1993. 792 p.

VAN DER GAAG, M. A. *et al.* A state-transition simulation model for the spread of *Salmonella* in the pork supply chain. **European Journal of Operational Research**, 2003. Disponível em: <<http://www.scirus.com>>. Acesso em: 10 mar. 2007.

TRIQUES, N. J. *et al.* Prevalência de *Salmonella* em suínos criados em cama sobreposta nas fases de crescimento e terminação - resultados preliminares. In: CONGRESSO DA ABRAVES, 13. 2007, Florianópolis. **Anais**. Florianópolis: ABRAVES 2007.

TUCKER L. A.; PICKARD T. **Interfacing immunity, gut health and performance**. Thrumpton: Nottingham University Press, 2004. p. 15-48.

VAN DER WOLF, P.J. *et al.* Study plan and preliminary results of the intervention in the Salmonella status of finishing herds by adding organic acids to the drinking water of finishers. In: International Symposium on Epidemiology and Control of Salmonella in Pork, 3, 1999, Washington, DC, USA. **Proceedings**. Washington, 1999. p. 289.

VAN DER WOLF, P.J. *et al.* Herd level husbandry factors associated with the serological Salmonella prevalence in finishing pig herds in The Netherlands. **Veterinary Microbiology**, n. 78, p. 205 – 219, 2001.

VARNAM, A H.; EVANS, M. G. Salmonella. In: _____. **Foodborne Pathogens: an illustrated text**. Aylesbury, England: Wolf, 1991. cap. 4, p. 51 – 462.

VERBEKE, Win. **Consumo de carne fresca e segurança alimentar: comportamento dos consumidores belgas**. II Conferência virtual sobre qualidade de carne suína, 2001. Disponível em: <www.conferencia.uncnet.br/pork/seg/pal/anais01p2_verbeke_pt.pdf>. Acesso em 30 jun. 2006.

WIEST, J.M. Desinfecção e desinfetantes. In: GUERREIRO, et al. **Bacteriologia especial: com interesse em saúde animal e saúde pública**. Porto Alegre: Sulina, 1984. cap. 5. p. 51-66.

WILCOCK, B. P.; SCHWARTZ, K. J.; Salmonellosis. In: LEMAN, A. D. *et al.* (Ed.). **Diseases of swine**, 7th ed. Ames: Iowa State University Press, 1992. p. 570-583.

PERSPECTIVAS

A partir dos dados deste estudo, será realizada a análise dos fatores de risco. Para isso será realizado outro tratamento estatístico, cuja variável resposta e as variáveis explicativas serão submetidas à análise por regressão logística para a identificação dos fatores de risco associados à contaminação residual nas granjas.

Os fatores de risco, por sua vez serão incluídos em protocolos de controle de *Salmonella* sp. em suínos.