



Ocorrência de *Salmonella* sp. em cortes de pernil provenientes de lotes suínos portadores ao abate*

Salmonella sp. occurrence in rump cuts from batches of carrier pigs at slaughter

Roberta Bandeira¹, Débora da Cruz Payão Pellegrini² & Marisa Cardoso³

RESUMO

Suínos portadores assintomáticos de *Salmonella* sp. ao abate podem ser fonte de contaminação de carcaças. Posteriormente, a elevada manipulação durante o processamento pode resultar em contaminação cruzada e amplificação do índice de produtos positivos. A partir disso, o presente estudo teve como objetivo determinar a frequência de isolamento de *Salmonella* sp. em cortes de pernil originários de lotes de suínos portadores ao abate. Foram coletadas amostras de conteúdo intestinal de suínos (n=48) ao abate e de cortes de pernil (n=99), provenientes dos mesmos lotes de animais. As amostras de cortes de pernil foram analisadas em “pools” de três amostras. As amostras colhidas foram submetidas a protocolo de isolamento e identificação de *Salmonella* sp. Verificou-se que 50% das amostras de conteúdo intestinal e 55,5% dos “pools” de cortes de pernil foram positivos para *Salmonella*. Foi encontrada uma grande variedade de sorovares de *Salmonella* sp., sendo que *S. Panama* foi o mais prevalente. Os resultados sugerem que a entrada de animais no frigorífico excretando *Salmonella* sp. contribui para a contaminação do produto final. A diversidade de sorovares e clones encontrados indicam a existência de múltiplas fontes de contaminação, tanto para os animais quanto para o produto final.

Descritores: *Salmonella*, suíno, cortes de pernil.

ABSTRACT

Salmonella carrier pigs at slaughter may be a source of carcass contamination. Moreover, the extensive manipulation during the cuts processing can result in cross-contaminations and amplification of final products contamination. In this sense, the aim of this study was to evaluate the frequency of *Salmonella*- positive rump cuts originated from positive slaughter pigs batches. Samples of intestinal contents (n=48) from slaughter pigs and rump cuts (n=99) from the same pig batches were tested for the presence of *Salmonella*, using an isolation protocol previously described. Rump cuts were analyzed in pools of three samples. *Salmonella* was isolated from 50% of the intestinal content samples and from 55.5% of the rump cuts pools. A great diversity of serovars was found among the *Salmonella* isolates, and *S. Panama* was the most prevalent. The results indicate that pigs excreting *Salmonella* at slaughter are an important source for rump cuts contamination. The high diversity of serovars and clonal groups found demonstrated the multiple origins of contamination of animals and products.

Key words: *Salmonella*, swine, rump cuts.

INTRODUÇÃO

A salmonelose é uma das causas mais comuns de doenças transmitidas por alimentos, sendo veiculada, principalmente, por alimentos de origem animal [15]. No caso dos suínos, a infecção causada pela maioria dos sorovares de *Salmonella* apresenta-se na forma subclínica [19]. Devido à dificuldade da detecção de portadores assintomáticos antes do abate, esses animais representam um risco para a inocuidade dos produtos, podendo ser fonte de contaminação cruzada para instrumentos e carcaças durante o processamento [2,14].

Suínos portadores de *Salmonella* sp. ao abate foram identificados anteriormente no sul do Brasil [3], demonstrando-se uma importante amplificação no índice de amostras positivas ao longo do processamento de lingüiça frescal produzida com matéria-prima proveniente de lotes positivos [5]. Já em relação aos cortes de carne, que sofrem menor manipulação durante o processamento, é possível supor que a qualidade final esteja mais relacionada à contaminação superficial das carcaças do lote de origem.

A partir disso, esse estudo teve como objetivo avaliar a frequência de isolamento de *Salmonella* sp. em cortes de pernil suíno provenientes de carcaças oriundas de lotes com prevalência de suínos portadores, comparando os sorovares e os perfis de resistência a antimicrobianos dos isolados obtidos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram realizadas três amostragens, em dias distintos, em um frigorífico localizado no sul do Brasil, no período de julho de 2001 a março de 2002. A cada amostragem, foram colhidos fragmentos de intestinos de animais, selecionados aleatoriamente, pertencentes a três lotes abatidos. No dia subsequente eram colhidos os fragmentos de corte de pernil de carcaças pertencentes aos mesmos lotes amostrados anteriormente.

O número de amostras de conteúdo intestinal foi calculado pelo programa Epi-Info [8], considerando a prevalência previamente determinada [3], intervalo de confiança de 95% e precisão absoluta de 25%, resultando em 16 amostras (n=16) por amostragem. Para as coletas de pernil, o número de amostras foi calculado considerando uma prevalência detectável de 3% e intervalo de confiança de 95%, totalizando 99 amostras (n=99). As amostras de pernil foram processadas em *pool* de três amostras, resultando em 33

pools processados por amostragem. Todas as amostras colhidas foram mantidas em caixas isotérmicas, e processadas imediatamente após a chegada no Setor de Medicina Veterinária Preventiva da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Para isolamento de *Salmonella* sp. foi utilizado protocolo padronizado anteriormente [16], compreendendo etapas de pré-enriquecimento, enriquecimento seletivo em Caldo Rappaport-Vassiliadis¹ e Tetratio-nato¹, seguido de isolamento em ágar XLT-4¹ e Lactose-sacarose-bile (BPLS)¹. Colônias suspeitas foram identificadas por provas bioquímicas e pelo teste de aglutinação em lâmina, utilizando o Soro *Salmonella* Polivalente Somático (PROBAC)². Uma colônia confirmada de *Salmonella* sp. de cada uma das amostras positivas foi enviada para sorotipificação na Fundação Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ).

Paralelamente, os isolados sorotipificados foram testados quanto a sua resistência a antimicrobianos pelo método da difusão em ágar Mueller-Hinton [6]¹. Foram utilizados no teste discos³ dos seguintes antimicrobianos: ácido nalidíxico (30 mg), amicacina (30 mg), amoxicilina/ácido clavulânico (20/10 mg), ampicilina (10 mg), cloranfenicol (30 mg), sulfa/trime-toprima (5 mg), estreptomicina (10 mg), gentamicina (10 mg), sulfonamida (300 mg), tetraciclina (30 mg) e tobramicina (10 mg). A cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 foi utilizada para testar a qualidade dos discos de antimicrobianos.

Os dados de prevalência de *Salmonella* sp. nos animais ao abate e presença de *Salmonella* sp. no produto final foram comparados pelo teste de Wilcoxon, utilizando-se o programa SPSS [20]. Diferenças estatísticas foram consideradas significativas em $p < 0,05$.

RESULTADOS

Nas três amostragens realizadas, encontrou-se uma frequência média de 50% (24/48) de suínos positivos para *Salmonella* sp. no conteúdo intestinal. Os cortes de pernil provenientes destes lotes de animais, por sua vez, foram positivos para *Salmonella* sp. em 55,5% (55/99) dos “pools” de amostras analisados (Tabela 1). Não houve diferença estatisticamente significativa entre os percentuais de amostras positivas encontrados no conteúdo intestinal e no produto final.

Dos 79 isolados de *Salmonella enterica*, 15 foram não tipáveis e os demais foram classificados

em 8 sorovares distintos (Tabela. 1). Entre os 24 isolados de conteúdo intestinal, predominaram os sorovares Panama (n=9) e Typhimurium (n=5), enquanto os 55 isolados provenientes de cortes de pernil foram classificados principalmente nos sorovares Panama (n=24) e Bredeney (n=12). O sorovar Ohio foi isolado somente a partir de cortes de pernil, enquanto, os sorovares Derby e Orion foram encontrados apenas entre isolados de conteúdo intestinal. Constatou-se variação entre os sorovares encontrados em isolados provenientes de animais e de produto final em todas as amostragens realizadas. *S. Typhimurium*; *S. Bredeney* e *S. Panama* foram os únicos sorovares identificados tanto em isolados provenientes de conteúdo intestinal como de cortes de pernil colhidos numa mesma amostragem.

A distribuição de amostras resistentes aos antimicrobianos testados, de acordo com o sorovar, consta na Tabela 2. Cinco isolados pertencentes ao sorovar Panama foram sensíveis a todos os antimicrobianos. Os maiores índices de resistência foram encontrados contra sulfonamida (n=56), estreptomicina (n=36), ácido nalidíxico (n=32) e tetraciclina (n=28). Não houve concordância entre os perfis de resistência de grupos de isolados, classificados em um sorovar comum, provenientes de animais e produto final colhidos numa mesma amostragem (Tabela 3).

DISCUSSÃO

No presente estudo ficou evidenciado o isolamento de *Salmonella* sp. em cortes de pernil provenientes de lotes com a presença de suínos portadores ao abate. Ainda, foi observado que a frequência de cortes de pernil positivos não diferiu estatisticamente da porcentagem de isolamentos obtidos a partir de conteúdo intestinal dos animais abatidos, demonstrando que animais positivos ao abate são efetivamente um fator de risco para a contaminação do produto final. A presença de suínos positivos ao abate, por sua vez, pode resultar de infecções ocorridas na granja de origem, durante o transporte ou nas baias de espera do frigorífico [2,18,21,23]. Ao lado disto, já foi demonstrado que *Salmonella* sp. é capaz de invadir o trato gastrointestinal após poucas horas da infecção dos animais [13], o que torna o período de transporte e espera pré-abate altamente crítico para os lotes que saem negativos da granja. Apesar da disseminação da bactéria poder ocorrer em diferentes tecidos, o trato gastrointestinal representa o principal sítio de presença de *Salmonella* sp. nos suínos portadores [9]. Dessa forma, o extravasamento do conteúdo intestinal durante a evisceração pode ser responsável pela contaminação da carcaça do próprio animal, bem como a contaminação cruzada de outras carcaças, instrumentos e ambiente [2,4,23].

Tabela 1. Número de amostras positivas e sorovares de *Salmonella* sp. isolados em conteúdo intestinal e cortes de pernil colhidos no sul do Brasil, no período de julho de 2001 a março de 2002.

| Amostragem | Conteúdo intestinal (n=16)* | | Corte de pernil (n=33)** | |
|-----------------------------|-----------------------------|--|--------------------------|--|
| | Positivos | Sorovares (n) | Positivos | Sorovares (n) |
| 1 | 5 | Typhimurium (2); Derby (1); Mbandaka (1); <i>Salmonella</i> sp. (1) | 16 | <i>Salmonella</i> sp. (4); Bredeney (5); Typhimurium (3); Mbandaka (3); Panama (1) |
| 2 | 8 | Panama (4); Minnesota (2); Bredeney (1); Derby (1) | 22 | Panama (9); <i>Salmonella</i> sp. (3); Bredeney (7); Ohio (2); Typhimurium (1) |
| 3 | 11 | Panama (5); Typhimurium (3); Orion (2); Bredeney (1) | 17 | Panama (14); <i>Salmonella</i> sp. (1); Minnesota (2) |
| Positivos/total de amostras | 24/48 | | 55/99 | |

*Número de amostras colhidas em cada amostragem. **Número de pools de três amostras de corte de pernil colhidas em cada amostragem.

Tabela 2. Número de isolados de *Salmonella* sp. resistentes a antimicrobianos, de acordo com o sorovar, provenientes de amostras de conteúdo intestinal e cortes de pernil colhidos no sul do Brasil, no período de julho de 2001 a março de 2002.

| Sorovar | Isolados | Antimicrobianos | | | | | | | | | | |
|-----------------------|----------|-----------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | | SUT | TET | NAL | AMI | CLO | TOB | EST | SUL | GEN | AMC | AMP |
| Panamá | 33 | 6 | 3 | 14 | 1 | 1 | 3 | 22 | 28 | 6 | - | 6 |
| Bredeney | 14 | 1 | 2 | 7 | 1 | 4 | 1 | 4 | 10 | 1 | - | 2 |
| Typhimurium | 9 | 5 | 8 | 3 | 1 | 3 | 2 | 2 | 6 | - | 1 | - |
| <i>Salmonella</i> sp. | 9 | 4 | 7 | 4 | 1 | 5 | 2 | 4 | 6 | - | 2 | 4 |
| Minnesota | 4 | 1 | 2 | 2 | - | 4 | 1 | - | 2 | 1 | - | - |
| Mbandaka | 4 | - | 2 | 1 | - | - | 2 | 3 | 1 | 1 | - | - |
| Derby | 2 | 2 | 2 | 1 | - | - | - | - | 2 | - | - | 1 |
| Ohio | 2 | - | 1 | 1 | - | - | 1 | - | - | - | - | - |
| Orion | 2 | - | 1 | - | - | - | 1 | 1 | 1 | 1 | - | 1 |
| Total | 79 | 19 | 28 | 32 | 4 | 17 | 13 | 36 | 56 | 10 | 3 | 14 |

AMC= Amoxicilina + Ácido Clavulânico, AMI= Amicacina, AMP= Ampicilina, CLO= Cloranfenicol, EST= Estreptomina, GEN= Gentamicina, NAL= Ácido Nalidíxico, SUL= Sulfonamida, SUT= Sulfá/trimetoprima, TET= Tetraciclina e TOB= Tobramicina.

Tabela 3. Perfis de resistência a antimicrobianos de isolados pertencentes a um mesmo sorovar se *Salmonella enterica*, provenientes de amostras de conteúdo intestinal e cortes de pernil, colhidos em uma amostragem comum conduzida em frigorífico do sul do Brasil, no período de julho de 2001 e março de 2002.

| Sorovar | Amostragem | Perfil dos isolados de conteúdo intestinal (n) | Perfil dos isolados de cortes de pernil (n) |
|-------------|------------|--|---|
| Typhimurium | 1 | Tet (2) | TetSut (1) AmcNalSulSut (1); AmiNalSulTetTob (1) |
| Panamá | 2 | AmpEstNalSulSut (2); EstGenNalSulSut (1); EstNalSulSut (1) | EstNalSul (5); AmpSul (1); SulTob (1); AmpEstNalSul (1); NalSulSut (1) |
| Bredeney | 2 | NalSul (1) | CloNalSul (1); AmpCloNalSut (1); Sul (1); AmiEstSul (1); EstSul (1); EstGenNalTob (1) |
| Panama | 3 | Sensível (5) | EstSul (2); EstGenSul (2); AmiEstGenSulTet (1); EstSulSut (1); EstGenSulTetTob (1); CloEstSulTob (1); EstSulTet (1); NalSul (1); EstNalSul (1); Sul (1); AmpSul (1); AmpEstGenSul (1) |

Estudos anteriores conduzidos na mesma região haviam demonstrado a presença de animais portadores de *Salmonella* ao abate [3], assim como a associação entre a presença de lotes positivos e a contaminação de lingüiça frescal [5]. Nesse estudo, lotes com prevalência de portadores em linfonodos entre 81 e 87%, resultaram em até 100% das amostras de massa de embutimento com a presença de *Salmonella* sp. Esse resultado demonstra a contaminação cruzada que pode ocorrer em produtos altamente manipulados e que incluem a mistura de matéria-prima originária de carcaças de diferentes lotes. Já no caso dos cortes de pernil, o processamento envolve uma menor manipulação e a origem do produto tem relação mais

evidente com o lote dos animais abatidos, o que se refletiu na frequência de isolamento em ambos os tipos de amostra analisados no presente estudo.

As múltiplas fontes de contaminação e recontaminação presentes ao longo da cadeia produtiva refletiram-se também na diversidade de sorovares encontrados nos animais e nos cortes de pernil. Dessa forma, mesmo entre isolados provenientes de um evento de amostragem comum, constatou-se a presença de sorovares distintos. A diversidade de sorovares tem sido explicada pela mistura de animais, vindos de diferentes granjas [22], pelo contato com ambiente de espera pré-abate com contaminação residual [18] e pela contaminação cruzada de carcaças na

linha de processamento [21,23]. Essa complexa cadeia de transmissão, por sua vez, torna programas de controle de *Salmonella* de difícil execução, necessitando o comprometimento de todos os elos da cadeia produtiva para que se alcance o sucesso.

Uma outra preocupação crescente em relação aos alimentos está relacionada à seleção de cepas resistentes pelo uso de antimicrobianos, na produção animal [7]. Principalmente a possibilidade do consumo de alimentos contaminados com bactérias patogênicas resistentes, tem levado ao constante monitoramento de isolados provenientes de animais e de produto [1]. No presente estudo, não houve diferença significativa entre as frequências de resistências encontradas entre os isolados de animais e de cortes de pernil, indicando que as cepas resistentes que provavelmente circulavam nas granjas chegaram até o produto a ser adquirido pelo consumidor. Da mesma forma, observa-se que os maiores índices de resistência foram detectados contra antimicrobianos de uso freqüente em suínos, concordando com relatos anteriores [3,5]. Entre os antimicrobianos testados, a resistência encontrada ao ácido nalidíxico assume importância, uma vez que cepas resistentes necessitam de concentrações mais elevadas de fluoroquinolonas para serem inibidas. Essas drogas, por sua vez, são consideradas de eleição no tratamento de casos de salmonelose grave em humanos [12].

Paralelamente, o perfil de resistência a antimicrobianos tem sido empregado como uma ferramenta para identificar linhagens clonais entre isolados de *Salmonella* pertencentes ao mesmo sorovar [3,10,11]. Geralmente, esses padrões têm sido empregados combinados a métodos genotípicos, uma vez que os perfis de resistência podem sofrer modificação ao longo do tempo. No presente estudo, os perfis de resistência de isolados classificados em um sorovar comum foram comparados para avaliar se as cepas encontradas nos animais abatidos estavam presentes nos cortes de pernil oriundos dos mesmos lotes. Os resultados obtidos não permitiram demonstrar claramente a presença de linhagens clonais no produto, que estivessem presentes nos animais pertencentes aos lotes amostrados. Essa observação enfatiza as múltiplas origens de contaminação de produtos, bem como a existência de grande diversidade de clones tanto na granja e como na linha de processamento.

Os dados obtidos indicam a necessidade do estabelecimento de medidas de prevenção e controle em relação à presença de *Salmonella* sp. nos produtos de origem suína, bem como o constante monitoramento da presença de isolados resistentes a antimicrobianos em alimentos de origem animal.

NOTAS INFORMATIVAS

¹Merck, Brasil, Rio de Janeiro, Brasil.

²PROBAC do Brasil, São Paulo, Brasil.

³Sensidisc, DME, Araçatuba, Brasil.

REFERÊNCIAS

- 1 **Beaudin B.A., Brosnikoff C.A., Grimsrud K.M., Heffner T.M., Rennie R.P. & Talbot J.A. 2002.** Susceptibility of human isolates of *Salmonella typhimurium* DT104 to antimicrobial agents used in human and veterinary medicine. *Diagnostic Microbiology Infectious Disease*. 42: 17-20.
- 2 **Berends B.R., Urlings H.A.P., Snijders J.M.A. & Van Knapen F. 1996.** Identification and quantification of risk factors in animal management and transport regarding *Salmonella* in pigs. *International Journal of Food Microbiology*. 30: 37-53.
- 3 **Bessa M.C., Costa M. & Cardoso M. 2004.** Prevalência de *Salmonella* sp. em suínos abatidos em frigoríficos sob inspeção federal no Rio Grande do Sul. *Brazilian Journal of Veterinary Research*. 24: 80-84.
- 4 **Borch E., Nesbakken T. & Christensen H. 1996.** Hazard identification in swine slaughter with respect to foodborne bacteria. *International Journal of Food Microbiology*. 30: 9-25.
- 5 **Castagna S.M.F., Schwarz P., Canal C.W. & Cardoso M. 2004.** Prevalência de suínos portadores de *Salmonella* sp. ao abate e contaminação de embutidos tipo frescal. *Acta Scientiae Veterinariae*. 32: 141-147.
- 6 **Clinical and Laboratory Standards Institut (CLSI/NCCLS). 2005.** Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test - Eighth edition: Approved standard M2-A8, CLSI/NCCLS, Wayne, PA, USA.
- 7 **Cruchaga S., Echeita A., Aladueña A., García-Peña J., Frias N. & Usera M.A. 2001.** Antimicrobial resistance in salmonellae from humans, food and animals in Spain in 1998. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 47: 315-321.
- 8 **Epi-Info 3.4.** Disponível em: <http://www.cdc.gov/epiinfo>
- 9 **Funk J.A., Davies P.R. & Gebreyes W. 2001.** Risk factors associated with *Salmonella enterica* prevalence in three-site swine production systems in North Caroline, USA. *Berliner Münchener Tierärztliche Wochenschrift*. 114: 335-338.

- 10 Gebreyes W. & Altier C. 2002. Molecular characterization of multidrug-resistant *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium isolates from swine. *Journal of Clinical Microbiology*. 40: 2813-22.
- 11 Gebreyes W., Altier C. & Thakur S. 2006. Molecular epidemiology and diversity of *Salmonella* serovar Typhimurium in pigs using phenotypic and genotypic approaches. *Epidemiology and Infection*. 134: 187-198.
- 12 Gorman R. & Adley C. 2004. Characterization of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium isolates from human, food and animal sources in the Republic of Ireland. *Journal of Clinical Microbiology*. 42: 2314-2316.
- 13 Hurd H.S., McKean J.D., Wesley I.V. & Karkiker L.A. 2001. The effect of lairage on *Salmonella* isolation from market swine. *Journal of Food Protection*. 64: 939-944.
- 14 Letellier A., Messier S. & Quessy S. 1999. Prevalence of *Salmonella* sp. and *Yersinia enterocolitica* in finishings at Canadian abattoirs. *Journal of Food Protection*. 62: 22-25.
- 15 Mead P.S., Slutsker L., Dietz V., McCaig L.F., Bresee J.S., Shapiro C., Griffin P.M. & Tauxe R.V. 1999. Food-related illness and death in the United States. *Emerging Infectious Disease*. 5: 607-625.
- 16 Michael G.B., Simoneti R., Costa M. & Cardoso M. 2003. Comparison of different selective enrichment steps to isolate *Salmonella* sp. from feces of finishing swine. *Brazilian Journal of Microbiology*. 34:138-142.
- 17 Oliveira C.J.B., Carvalho L.F.O.S., Fernandes S.A., Tavechio A.T., Menezes C.C.P. & Domingues Jr. F.J. 2002. Antimicrobial resistance of *Salmonella* serotypes isolated from slaughter-age pigs and environmental samples. *Microbial Drug Resistance*. 4: 407-411.
- 18 Rostagno M.H., Hurd H.S. & McKean J.D. 2003. Pre-slaughter holding environment in pork plants is highly contaminated with *Salmonella enterica*. *Applied Environmental Microbiology*. 69: 4489-4494.
- 19 Schwartz K. J. 2000. Salmonellosis. In: Straw B.E., D'Allaire S., Mengeling W.L. & Taylor D.J.(Eds). *Disease of swine*. 8th edn. Ames: Iowa State University, pp.535-551.
- 20 SPSS – Statistical Package for the Social Sciences. 1998. Versão 8.0. Chicago: Mc Graw – Hill Book Company, pp.145-159.
- 21 Swanenburg M., Urlings H.A.P. & Snijders J.M.A. 2001. *Salmonella* in slaughter pigs: prevalence, serotypes and critical control points during slaughter in two slaughterhouses. *International Journal of Food Microbiology*. 70: 243-254.
- 22 van der Wolf P.J., Wolders W.B. & Elbers A.R. 2001. *Salmonella* seroprevalence at the population and herd level in pigs in the Netherlands. *Veterinary Microbiology*. 80:171-184.
- 23 Vieira-Pinto M., Tenreiro R. & Martins C. 2006. Unveiling contamination sources and dissemination routes of *Salmonella* sp. in pigs at a Portuguese slaughterhouse through macrorestriction profiling by pulsed-field electrophoresis. *International Journal of Food Microbiology*. 110: 77-84.