

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**OCORRÊNCIA DE *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes* E
FREQUÊNCIA DE ISOLADOS DE *Escherichia coli* RESISTENTES A
ANTIMICROBIANOS EM FEZES E CARÇAÇAS SUÍNAS NA ETAPA DE
PRÉ-RESFRIAMENTO**

CAROLINE PISSETTI

PORTO ALEGRE

2012

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**OCORRÊNCIA DE *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes* E
FREQUÊNCIA DE ISOLADOS DE *Escherichia coli* RESISTENTES A
ANTIMICROBIANOS EM FEZES E CARÇAÇAS SUÍNAS NA ETAPA DE
PRÉ-RESFRIAMENTO**

Autora: Caroline Pissetti*

**Dissertação apresentada como requisito
para obtenção do grau de Mestre em
Ciências Veterinárias, especialidade na
área de Bacteriologia Aplicada.**

**Orientadora: Dra. Marisa Ribeiro de
Itapema Cardoso**

PORTO ALEGRE

2012

*** Médica Veterinária**

CIP - Catalogação na Publicação

Pissetti, Caroline

Ocorrência de Salmonella enterica, Listeria monocytogenes e frequência de isolados de Escherichia coli resistentes a antimicrobianos em fezes e carcaças suínas na etapa de pré-resfriamento / Caroline Pissetti. -- 2012.

91 f.

Orientadora: Marisa Ribeiro de Itapema Cardoso.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, BR-RS, 2012.

1. Suínos. 2. resistência antimicrobiana. 3. doenças transmitidas por alimento. 4. Salmonella. 5. Listeria monocytogenes. I. Cardoso, Marisa Ribeiro de Itapema, orient. II. Título.

Caroline Pissetti

Ocorrência de *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes* e frequência de isolados de *Escherichia coli* resistentes a antimicrobianos em fezes e carcaças suínas na etapa de pré-resfriamento

Aprovado em 28 de fevereiro de 2012.

APROVADO POR

Dra. Marisa Ribeiro de Itapema Cardoso
Orientadora e Presidente da Comissão

APROVADO POR

Dr. David Emílio dos Santos Neves de Barcellos
Membro da Comissão

APROVADO POR

Dra. Eliana Knackfuss Vaz
Membro da Comissão

APROVADO POR

Dra. Marjo Cadó Bessa
Membro da Comissão

*Aos meus pais,
Arlete e Luiz Pissetti,
meus maiores incentivadores...*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por sempre estar ao meu lado, guiando pelos melhores caminhos.

Aos meus pais, Arlete e Luiz Pissetti, pelo amor incondicional, sempre incentivando a ter mais paciência e a persistir nos meus sonhos e ideais. A minha irmã, Camilla Pissetti, que mesmo longe sempre se fez presente em todos os momentos.

A Marisa Cardoso pela orientação, ensinamentos, amizade e principalmente pela paciência que sempre teve comigo e a Jalusa Kich pelo estímulo e colaboração essencial ao trabalho.

Aos funcionários da Embrapa Suínos e Aves, Luiza Biesus, Édio Klein e Lula e também a Marjo Bessa, pelo auxílio durante as coletas.

Agradeço a Gabriela Werlang, sempre disposta a ajudar independente do dia e da hora, deixando o ambiente de trabalho muito mais leve e divertido.

A Débora Pellegrini, pelo apoio com palavras confortantes, auxílio nas inúmeras dúvidas e acima de tudo amizade.

Aos colegas e amigos do laboratório de Medicina Veterinária Preventiva da UFRGS: Thais de Campos, Lilian Kolling, Daniel Paim, Andreia Ferronato, Héber Hein, Eduardo Costa, Lisiane Moreira, Tatiana Vieira, Priscila Guerra, Graciela Volz, Carine Wingert, Vanessa Dias, Waldemir Neto, Ellusa Assunção, Everton Juffo, Cristiane Moraes, Karla Escopelli, Mônica Maciel e Jane Both por todo apoio e colaboração durante o mestrado.

A todos, muito obrigada!

*Somos responsáveis pelo que somos, e pelo que desejamos ser,
nós temos o poder de nos fazer. Se o que somos agora é o resultado
de ações passadas, deduz-se que o que quer que sejamos no
futuro pode ser produzido por nossas ações do presente;
por isso precisamos saber como agir.*

Swami Vivekananda

Ocorrência de *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes* e frequência de isolados de *Escherichia coli* resistentes a antimicrobianos em fezes e carcaças suínas na etapa de pré-resfriamento

Autora: Caroline Pissetti

Orientadora: Marisa Ribeiro de Itapema Cardoso

RESUMO

Além de micro-organismos causadores de Doenças Transmitidas por Alimentos, a presença de bactérias resistentes a antimicrobianos deve ser monitorada para garantir a inocuidade da carne suína. O objetivo deste estudo foi determinar a frequência de *Salmonella enterica* e *Listeria monocytogenes* em amostras de fezes e carcaças suínas, e avaliar a resistência a antimicrobianos entre isolados de *Escherichia coli* provenientes das mesmas origens. Dois ciclos de amostragem foram conduzidos em três matadouros-frigoríficos localizados no Estado de Santa Catarina. Em cada ciclo, fezes colhidas a partir do piso da pocilga de espera, e suabes de superfície de 14 carcaças no pré-resfriamento foram amostrados em três lotes abatidos. As amostras foram analisadas quanto à presença dos gêneros *Salmonella* e *Listeria* e foi determinada a média de coliformes totais nas carcaças em cada ciclo de amostragem. Isolados de *E. coli* foram avaliados quanto à frequência de resistência a antimicrobianos pelo método de difusão em ágar. Das fezes colhidas 83,33% (15/18) apresentaram *Salmonella* sp., e 5,5% (1/18) *L. monocytogenes*. Do total de 252 carcaças, 27,38% (69/252) foram positivas para *Salmonella* sp. e 19,84% (50/252) para *L. monocytogenes*. Em 3,17% (8/252) carcaças houve o isolamento concomitante dos dois patógenos. Os isolados de *Salmonella* foram classificados em dez sorovares distintos, predominando *S. Typhimurium* nas fezes e *S. Derby* nas carcaças. A média de coliformes totais nas carcaças variou de $5,27 \times 10^1$ a $9,73 \times 10^3$. Em relação ao teste de resistência frente a antimicrobianos realizado em isolados de *E. coli*, observou-se maior frequência de resistência em isolados de fezes do que nos originados de carcaças, com diferença significativa para tetraciclina ($P < 0,001$), ampicilina ($P < 0,001$) e sulfonamida ($P = 0,022$). Entre os matadouros-frigoríficos, houve diferença na frequência de isolados resistentes para florfenicol e gentamicina ($P < 0,05$) em isolados de fezes, e para ácido nalidíxico,

sulfonamida e tetraciclina ($P < 0,05$) em isolados de carcaça. A elevada frequência de resistência a princípios ativos utilizados na suinocultura indicam pressão de seleção exercida pelo uso indiscriminado de antimicrobianos e podem resultar na co-seleção de genes de resistência localizados em cassetes gênicos. Os isolados multi-resistentes foram mais presentes nas fezes quando comparados com carcaças ($P < 0,001$), sugerindo que há diminuição da frequência de isolados resistentes ao longo do processo de abate. Com os resultados obtidos no presente estudo, conclui-se que maior atenção deve ser dispensada ao monitoramento das etapas do abate para identificar possíveis falhas que estão determinando a presença de carcaças contaminadas na fase de pré-resfriamento, além da necessidade do uso mais prudente dos antimicrobianos na suinocultura.

Palavras-chave: suínos, resistência antimicrobiana, doenças transmitidas por alimento

***Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* isolates resistant to antimicrobials in feces and pig pre-chill carcasses**

Author: Caroline Pissetti

Adviser: Marisa Ribeiro de Itapema Cardoso

ABSTRACT

Besides the contamination of pig carcasses with food borne pathogens, the presence of bacteria resistant to antimicrobials represent a new hazard that should be monitored in order to ensure the safety of pork. This study aimed at determining the frequency of *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* in samples of swine feces and carcasses, and at evaluating antimicrobial resistance among isolates of *Escherichia coli* from the same origin. Two cycles of sampling were carried out in three slaughterhouses located in the State of Santa Catarina. For each cycle, feces collected from the floor of the pen, and surface swabs of 14 carcasses at the pre-chill were sampled in three slaughtered batches. The samples were analyzed for the presence of *Salmonella* and *Listeria*, and the average of total coliforms on carcasses in each sampling cycle was determined. Isolates of *E. coli* were evaluated for the frequency of antimicrobial resistance by the agar diffusion method. Out of the feces collected 83.33% (15/18) had *Salmonella* sp., and 5.5% (1/18) *L. monocytogenes*. Out of the total of 252 carcasses, 19.84% (50/252) were positive for *Salmonella* sp. and 27.38% (69/252) for *L. monocytogenes*. In 3.96% (10/252) carcasses both pathogens were isolated. *Salmonella* isolates were classified in ten serovars, predominantly *S. Typhimurium* in the feces and *S. Derby* on the carcasses. The average of total coliforms on carcasses varied between 5.27×10^1 to 9.73×10^3 . Regarding the antimicrobial resistance tests carried out in isolates of *E. coli*, we observed a higher frequency of resistance in isolates from feces than from carcasses, with a significant difference for tetracycline ($P < 0.001$), ampicillin ($P < 0.001$) and sulfonamide ($P = 0.022$). Among the slaughterhouses, there were differences in the frequency of resistance against florfenicol and gentamicin ($P < 0.05$) in isolates from feces, and against nalidixic acid, sulfonamide and tetracycline ($P < 0.05$) in isolated from carcasses. The high frequencies of resistance to drugs used in swine production indicate selection pressure exerted by the indiscriminate use of antibiotics and may

result from co-selection of resistance genes located in gene cassettes. Multi-resistant isolates were more frequent in the feces compared to carcasses ($P < 0.001$), suggesting that there is a decrease in the frequency of resistant isolates during the slaughter process. From the results obtained in this study, it is concluded that more attention should be paid to monitoring the stages of the slaughter in order to identify possible flaws that are causing the presence of contaminated carcasses at the pre-chill, as well as the need for more prudent use of antimicrobials in swine production.

Keywords: swine, pork, antimicrobial resistance, food borne pathogens

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Fluxograma da linha de abate de suínos, da recepção dos animais ao resfriamento das carcaças _____ 34

FIGURA 2 – Frequência de isolados multi-resistentes em fezes e carcaças na etapa do pré-resfriamento, em três matadouros-frigoríficos (A, B, C) de Santa Catarina, 2010-2011 _____ 60

LISTA DE TABELAS

- TABELA 1 – Frequência de isolamento de espécies do gênero *Listeria* de amostras de fezes colhidas em pocilgas de espera de três matadouros-frigoríficos de Santa Catarina, 2010-2011 _____ 55**
- TABELA 2 – Frequência de isolamento de *Salmonella* sp. e *Listeria monocytogenes* em carcaças de três matadouros-frigoríficos (A, B, C) de Santa Catarina, 2010-2011 _____ 56**
- TABELA 3 – Frequência de isolamento de *Salmonella* sp. e sorovares encontrados em fezes e carcaças suínas de três matadouros-frigoríficos (A, B, C) de Santa Catarina, 2010-2011 _____ 56**
- TABELA 4 – Número médio de *Enterobacteriaceae* em carcaças amostradas na etapa de pré-resfriamento em três matadouros-frigoríficos (A, B, C) de Santa Catarina, 2010-2011 _____ 57**
- TABELA 5 – Frequência de resistência a antimicrobianos em isolados de *Escherichia coli* provenientes de fezes e carcaças em três matadouros-frigoríficos (A, B, C) de Santa Catarina, 2010-2011 _____ 57**
- TABELA 6 – Resultados de antibiogramas de isolados de *Escherichia coli* provenientes de fezes e carcaças suínas, no matadouro-frigorífico A ____ 58**
- TABELA 7– Resultados de antibiogramas de isolados de *Escherichia coli* provenientes de fezes e carcaças suínas, no matadouro-frigorífico B ____ 58**
- TABELA 8 – Resultados de antibiogramas de isolados de *Escherichia coli* provenientes de fezes e carcaças suínas, no matadouro-frigorífico C ____ 59**

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	14
1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
1.1. Gênero <i>Escherichia</i>	17
1.1.1. <i>Escherichia coli</i>	17
a) <i>E. coli</i> enterotoxigênica (ETEC)	18
b) <i>E. coli</i> enteroagregativa (EAEC)	19
c) <i>E. coli</i> aderente difusamente (DAEC)	20
d) <i>E. coli</i> enteroinvasiva (EIEC)	21
e) <i>E. coli</i> enteropatogênica (EPEC)	22
f) <i>E. coli</i> produtora de Shiga toxina (STEC)	22
1.1.1.1. <i>Escherichia coli</i> em suínos	24
1.1.1.2. <i>Escherichia coli</i> como indicador de contaminação fecal em alimentos	26
1.2. Gênero <i>Salmonella</i>	28
1.2.1. <i>Salmonella</i> sp. em suínos	31
1.3. Gênero <i>Listeria</i>	36
1.3.1. <i>Listeria monocytogenes</i>	37
1.3.1.1. <i>Listeria monocytogenes</i> em suínos	39
1.4. Resistência a antimicrobianos	41
1.5. Programas e monitoramento em carcaças suínas	46
2. MATERIAIS E MÉTODOS	49
2.1. Delineamento experimental	49
2.2. Colheita de amostras	49
2.3. Análises laboratoriais	50
2.3.1. Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	50
2.3.2. Pesquisa de <i>Salmonella</i> sp.	52
2.3.3. Quantificação de coliformes totais	52
2.3.4. Formação do grupo de isolados de <i>Escherichia coli</i>	53
2.3.5. Teste de sensibilidade a antimicrobianos em isolados de <i>Escherichia coli</i>	54

2.4. Análise estatística	54
3. RESULTADO	55
4. DISCUSSÃO	61
5. CONCLUSÃO	72
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73

INTRODUÇÃO

A produção suína mundial encontra-se em torno de 102 milhões de toneladas por ano, concentrando-se, em sua maior parte, na China, União Europeia e Estados Unidos. O Brasil ocupa o quarto lugar, produzindo 3,24 milhões de toneladas de carne suína. O país ocupa a mesma posição no grupo de países exportadores, com 625 mil toneladas por ano. O maior produtor nacional é o estado de Santa Catarina, responsável, em 2010, por 26% da produção total do país (746,9 mil toneladas), seguido do Rio Grande do Sul (588,7 mil toneladas) e Paraná (478,4 mil toneladas), conforme relatório anual da ABIEPCS (ABIEPCS, 2011).

Segundo dados da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação – FAO, a proteína animal de maior consumo é a carne suína, representando um total de 39% da ingestão proteica diária mundial, seguida da carne de frango (30%), e bovina (24%). Os países europeus são os principais consumidores de carne suína, sendo que na Áustria o consumo *per capita* alcança 73 kg/ano, ou seja, uma média de 208 gramas por dia (FAO, 2008). No Brasil, em 2010, o consumo anual alcançou apenas 14 quilos *per capita* (ABIEPCS, 2011).

A carne suína, assim como produtos cárneos processados, pode veicular micro-organismos patogênicos ao homem. As doenças transmitidas por alimentos (DTA) estão entre as enfermidades de maior ocorrência mundial, porém o número de casos de DTA atribuíveis ao consumo de carne suína não é totalmente conhecido. No Brasil, há subnotificação de DTA, o que dificulta estimar o número de casos, bem como os agentes etiológicos e os alimentos envolvidos nos surtos. Entretanto, dados disponíveis no país concordam com as estatísticas mundiais que apontam o gênero *Salmonella* como um dos mais prevalentes em casos de DTA em humanos.

Há duas formas de manifestação clínica de salmonelose em humanos, a forma gastroentérica (não tifóide), causada principalmente por *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium*, e a forma entérica (tifóide ou paratifóide) causada por *S. Typhi*. A primeira forma é a mais associada ao consumo de produtos de origem animal contaminados, principalmente ovos e carne de frango (EFSA, 2008a).

Dados da *European Food Safety Authority* – EFSA, estimam que 10 a 20% de casos de salmonelose possam ser veiculadas por produtos de origem suína na União Europeia (EFSA, 2010).

Os suínos portadores são considerados fonte primária de introdução de *Salmonella* nos matadouros-frigoríficos, podendo contaminar o ambiente, equipamentos e carcaças durante o processo de abate (BERENDS et al., 1997; EFSA, 2008b; TEUNIS et al., 2010). Estima-se que cerca de 70% das carcaças contaminadas resultem de animais portadores e 30% por contaminação cruzada (BERENDS et al., 1997; BOTTELDOORN et al., 2003). Carcaças contaminadas, por sua vez, podem resultar em produtos processados com a presença de *Salmonella*, como relatado em diversos estudos (CASTAGNA et al., 2004; BANDEIRA et al., 2007; MÜRMAN et al., 2009).

Menos prevalente nas estatísticas, porém relevante para saúde pública em virtude da gravidade dos sintomas causados em grupos considerados de risco (ACHA & SZYFRES, 2001), *Listeria monocytogenes* é o agente etiológico da listeriose humana. Anualmente, estima-se que seja a causa de mais de 1400 hospitalizações e 250 óbitos nos Estados Unidos (SCALLAN et al., 2011). Diversos alimentos prontos para o consumo e de origem láctea são os mais frequentes veiculadores dessa bactéria, porém produtos de origem suína podem também estar envolvidos na transmissão de *L. monocytogenes*.

A disseminação desse micro-organismo em matadouros-frigoríficos de suínos pode estar relacionada com a sua presença no conteúdo intestinal. Porém, estudos demonstram que as tonsilas albergam maior quantidade de *L. monocytogenes* quando comparadas com o intestino, atribuindo-se assim, à etapa de retirada das vísceras e cabeça o ponto crítico para a contaminação da carcaça (AUTIO et al., 2000; THEVENOT et al., 2006). Além disso, por sua capacidade de produzir biofilme e sobreviver a temperaturas baixas, *L. monocytogenes* pode permanecer no ambiente, sobrevivendo a procedimentos de limpeza e desinfecção, sendo o mesmo considerado como fonte potencial de contaminação das carcaças suínas (LUNDÉN et al., 2002).

Além de determinantes de patogenicidade presentes nestas bactérias, genes de resistência a antimicrobianos adquiridos horizontalmente, podem levar a falhas no tratamento da infecção. O elevado uso – terapêutico, metafilático e profilático – de antimicrobianos na produção animal contribui para

o aumento dos índices de resistência através da pressão de seleção exercida sobre bactérias comensais e patogênicas (SCHWARZ & CHASLUS-DANCLA, 2001).

Alguns micro-organismos encontrados em animais, por sua vez, apresentam perfil de resistência a antimicrobianos e genótipo semelhantes aos isolados humanos, reforçando a hipótese de que os animais de produção podem ser reservatório de bactérias multi-resistentes. Com isso, esta resistência torna-se um problema de saúde pública ligado à segurança dos alimentos.

A competitividade de mercado e a valorização a nível mundial da carne suína contribuem para o conceito de qualidade e inocuidade alimentar. Para suprir a exigência de alimentos inócuos e com qualidade, o Brasil deve estar atento para barreiras sanitárias impostas por países importadores, elaborando programas de monitoramento e controle em todo o sistema de produção. Estudos que contribuam para o conhecimento da situação de produtos de origem suína em relação à frequência de micro-organismos causadores de DTA, bem como os perfis de resistência a antimicrobianos, podem auxiliar no direcionamento de ações a serem tomadas na cadeia produtiva.

A partir disso, os objetivos deste trabalho foram: *i.* determinar a frequência de isolamento de *Salmonella* sp. e *Listeria monocytogenes* em amostras de fezes, colhidas nas pocilgas de espera de matadouros-frigoríficos, e de carcaças na etapa de pré-resfriamento; *ii.* avaliar a resistência à antimicrobianos entre isolados de *Escherichia coli* provenientes das mesmas amostras.

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1. Gênero *Escherichia*

O primeiro relato de isolamento do gênero *Escherichia* foi realizado em 1885, pelo bacteriologista alemão Theodor Escherich, a partir de fezes de uma criança (FAIRBROTHER & GYLES, 2006). Apenas em 1940, esta espécie foi relacionada como causadora de gastroenterite, em um surto em trabalhadores na Inglaterra (ADAMS & MOSS, 2000a).

O gênero *Escherichia* compreende bastonetes Gram-negativos, visualizados isoladamente ou em pares. São anaeróbios facultativos, não esporulantes, reduzem nitrato até nitrito, oxidase negativa e catalase positiva. Podem ser móveis pela presença de flagelos peritríquios, mas também apresentam espécies que são imóveis. Produzem ácidos em quantidade elevada a partir da glicose, detectada pelo teste de vermelho de metila. Geralmente não utilizam citrato como fonte de carbono, não produzem ácido sulfídrico (H₂S) e não hidrolisam a uréia e lípidos. Algumas espécies fermentam arabinose, maltose, manitol, manose, ramanose, trealose, lactose e xilose. A temperatura ótima de crescimento é 37°C. Fazem parte da microbiota intestinal normal dos animais de sangue quente, e podem ser patógenos oportunistas. Atualmente, são reconhecidas cinco espécies nesse gênero (HOLT et al., 1994; QUINN et al., 2011).

1.1.1. *Escherichia coli*

A diferenciação de *Escherichia coli* das demais espécies do gênero baseia-se na sua capacidade de produzir indol a partir do triptofano, incapacidade de utilizar o citrato como fonte de carbono, motilidade positiva e fermentação da lactose (QUINN et al., 2011).

A colonização por *E. coli* no trato intestinal de mamíferos ocorre a partir de fontes ambientais logo após o nascimento. A partir desse momento, persistem como membros da flora comensal do intestino, desempenhando função na síntese de vitaminas, principalmente da vitamina K. Entretanto,

essas cepas comensais podem causar infecções oportunistas em sítios extra-intestinais, como é o caso do trato urinário. As cepas responsáveis por causar enterocolite geralmente não fazem parte da microbiota normal de animais saudáveis, sendo adquiridas através do contato direto com animais portadores, ou ingestão de alimentos e água contaminados (KASNOWSKI et al., 2007). Algumas cepas de *E. coli* apresentam potencial patogênico, que pode ter sido adquirido durante o processo evolutivo da espécie, por meio da aquisição de genes de virulência por cepas comensais, através de mutações ou transferência horizontal de determinantes gênicos (MADIGAN et al., 2010). As cepas patogênicas são divididas em patotipos, de acordo com o tipo de toxina produzida e as doenças específicas que causam, podendo ser gastroenterite ou doenças extra-intestinais.

Dentre as cepas de *E. coli* causadoras de gastroenterite em seres humanos, a combinação de fatores de virulência possibilita a sua classificação em seis patotipos: *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* de aderência difusa (DAEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enteropatogênica (EPEC) e *E. coli* produtora de Shiga toxina (STEC) (HUANG et al., 2006).

a) *E. coli* enterotoxigênica (ETEC)

A patogenia da infecção por cepas ETEC está relacionada com a presença de fímbrias que possuem a capacidade de fazer ligação específica as células do intestino delgado de diferentes espécies animais e de humanos. Após a colonização, produzem e exportam para o interior da célula do hospedeiro enterotoxinas termoestável (ST) e/ou termolábil (LT). As LT são inativadas a uma temperatura de 60°C, após 30 minutos, e também sofrem desnaturação em pH ácido (DUBREUIL, 2008). São secretadas através da membrana externa da bactéria para o interior do enterócito, exercendo sua ação na secreção de fluídos dessas células. Quando a toxina liga-se aos receptores na superfície do enterócitos, ocorre a ativação da adenil ciclase, causando secreção de cloreto e saída de sódio e água (ZLOTOWSKY et al., 2008; FLECKENSTEIN et al., 2010).

Já as toxinas ST são assim denominadas por suportarem aquecimento de 100°C por 15 minutos sem perda de função; além disso, são ácido-resistentes. São peptídeos ricos em cisteína, e tem como mecanismo de ação a inibição do co-transporte de Na⁺ e Cl⁻ pela ativação da enzima guanil ciclase, bloqueando, assim, a absorção de água pelos enterócitos, e promovendo a secreção de cloreto e água nas criptas. Além desses dois tipos de enterotoxinas, descreveu-se mais recentemente em *E. coli* a toxina EAST1 cujo mecanismo de ação relaciona-se ao aumento da secreção de íons Cl⁻ e na inibição da absorção de íons Na⁺ (ZLOTOWSKY et al., 2008; FLECKENSTEIN et al., 2010).

A ETEC é responsável pela infecção entérica mais comum, frequentemente denominada “diarreia do viajante”. Em países subdesenvolvidos, onde a contaminação dos recursos hídricos por esgoto sem tratamento pode ocorrer, ETEC tende a ser endêmica. Os sintomas, que ocorrem 12 a 36 horas após a ingestão de alimento ou água contaminada, caracterizam-se por diarreia leve e sem ocorrência de febre. Casos mais graves podem cursar com diarreia mais intensa, porém sem sangue, dor abdominal e vômito. Geralmente é auto-limitante, havendo a recuperação após um período de até três dias (PIGOTT, 2008).

b) *E. coli* enteroagregativa (EAEC)

As cepas do patotipo EAEC ligam-se ao epitélio do jejuno, íleo e cólon. Primeiramente ocorre adesão à mucosa intestinal por fimbrias de aderência agregativa (AAF) e outros fatores de adesão. Há três subunidades estruturais AAF: AAF/I, AAF/II e AAF/III, codificadas pelos genes *aggA*, *aafA* e *agg-3*, respectivamente. A AAF/I é responsável pelo fenótipo agregativo e hemaglutinação de eritrócitos humanos observada em algumas cepas de EAEC; a AAF/II permite adesão à mucosa intestinal e a AAF/III também está envolvida com a agregação das bactérias e sua adesão às células epiteliais. Diferentemente da AAF/I e II, as quais morfologicamente formam feixes frouxos, AAF/III aparece em filamentos individuais longos e flexíveis (MONTEIRO-NETO et al., 2003). Após a adesão, a produção de muco pelo enterócito é induzida pela bactéria, resultando na formação de um biofilme.

A liberação de toxinas ocorre logo em seguida, lesando enterócitos. Três toxinas envolvidas nesse quadro já foram identificadas: toxinas mediadas por plasmídeos (Pet), enterotoxina termoestável (EAST1), e *Shigella* enterotoxina 1 (ShET1). A Pet funciona como uma enterotoxina e uma citotoxina, induzindo o alongamento celular e o arredondamento das vilosidades, seguido de esfoliação de células do substrato, acompanhados de perda de fibras de actina. A EAST1, codificado por *astA*, é uma proteína resistente ao calor semelhante a toxina ST encontrada em ETEC. Foi originalmente detectada em cepas EAEC, no entanto, EAST1 foi posteriormente também identificada em outros patótipos (ETEC, EHEC, EPEC e DAEC) (HARRINGTON et al., 2006).

Juntamente com a liberação de toxinas, há o estímulo da resposta inflamatória, cuja extensão depende diretamente dos mecanismos de defesa do hospedeiro e da virulência da cepa. Porém, a associação da presença de genes de virulência com os sintomas clínicos encontrados, nem sempre é clara. Assim, cepas de EAEC que apresentam os genes de virulência citados nem sempre estão associadas com doença clínica. No entanto, a presença de fatores de virulência em cepas de *E. coli* está associada com níveis elevados de citocinas nas fezes e marcadores inflamatórios, como a interleucina (IL)-1ra, IL-1β, IL-8, interferon (INF)-γ, lactoferrina, leucócitos fecais e pesquisa de sangue oculto (HUANG et al., 2006).

A principal forma de infecção é a via fecal-oral, sendo os surtos frequentemente associados ao consumo de saladas e água (OKEKE & NATARO, 2001). Os sintomas mais comumente relatados são diarreia aquosa com ou sem sangue e muco, dor abdominal, náusea, vômito e febre, podendo apresentar-se de forma aguda ou crônica (HUANG et al., 2006).

c) *E. coli* aderente difusamente (DAEC)

O patótipo DAEC é caracterizado por seu padrão de adesão difusa, que envolve toda a célula. Sabe-se que o padrão de aderência difusa é devido a adesinas codificadas por uma família de operons chamada de *afa/dra/daa* produtoras de adesinas fimbriais (F1845 e Dr) e não-fimbriais (AfaE-I e AfaE-III). Entretanto, pouco é conhecido sobre a sua patogênese, pois alguns estudos têm demonstrado o envolvimento como agente de diarreia, enquanto

outros encontram maior quantidade de DAEC em fezes de pacientes sem apresentação clínica. Diversos estudos associam cepas de DAEC como causa de diarreia, particularmente em crianças maiores de 12 meses de idade. Nesses casos, as lesões características ocorrem nas microvilosidades, porém detalhes da epidemiologia da aquisição da doença ainda não é bem determinado, além de gravidade e transmissão da mesma (KAPER et al., 2004; LE BOUGUENEC & SERVIN, 2006).

Algumas cepas de DAEC não induzem secreção de IL-8, portanto não provocam reação inflamatória. Este fato ocorre, provavelmente pela heterogeneidade das cepas que compõem o grupo de DAEC, diferindo entre si quanto à virulência. Sendo assim, a adesão difusa isoladamente parece ser insuficiente para causar lesões intestinais (ARIKAWA et al., 2005).

d) *E. coli* enteroinvasiva (EIEC)

Cepas pertencentes ao grupo EIEC apresentam características próprias, quando comparadas aos outros patótipos: não possuem flagelos, fermentam tardiamente ou não utilizam a lactose. Estas cepas assemelham-se ao gênero *Shigella*, causando manifestação clínica similar. Apesar disso, não produzem Shiga toxina, e sua dose infectante é maior que a necessária para a infecção de humanos por *Shigella*, 10^6 a 10^8 células (VAN DEN BELD & REUBSAET, 2011).

O principal mecanismo de patogenicidade é a invasão, ocorrendo penetração em células epiteliais, seguida pela lise do vacúolo endocítico, multiplicação intracelular, movimento direcional no citoplasma e invasão das células adjacentes. O plasmídeo *plny*, presente tanto em *Shigella* quanto em cepas EIEC, é responsável pela codificação e expressão de vários genes, que são ativados em resposta a sinais do microambiente. O sistema de secreção tipo III presente nessas bactérias medeia eventos como: sinalização na célula epitelial, rearranjo do citoesqueleto, captação celular e lise de vacúolos. Outros fatores relacionados com a invasão já foram descritos, sendo os genes *ial* (*invasion associated locus*) e *ipaH* os principais (KAPER et al., 2004; PARSOT, 2005).

Os pacientes acometidos por este patotipo apresentam a doença invasiva do cólon, chamada de disenteria bacilar. Os sintomas característicos são febre, dor abdominal, e diarreia aquosa, podendo ocorrer fezes com sangue e muco. A disenteria causada por EIEC é, geralmente auto-limitante (SABRÁ, 2002).

e) *E. coli* enteropatogênica (EPEC)

Cepas EPEC causam a aderência na superfície do epitélio intestinal que resultam em lesões típicas denominadas *attaching and effacing*, e que levam à destruição das microvilosidades. O contato inicial entre EPEC e a célula hospedeira é mediado por adesinas, denominadas *bundle forming pillus* (BFP).

A partir desta etapa, ocorre o deslocamento de proteínas efetoras da bactéria para a célula alvo, mediados pelo sistema de secreção do tipo III (TTSS). Durante este estágio, há produção de mediadores da inflamação e apoptose, evoluindo para a adesão mais intensa da bactéria à célula epitelial, mediada por uma proteína da membrana externa da bactéria, a intimina, e seu receptor celular Tir. Esta interação intimina-Tir provoca rearranjo no citoesqueleto celular, ocasionando o encurtamento da vilosidade e prejuízo da capacidade absorptiva. Os genes necessários para a formação da lesão típica encontram-se numa ilha de patogenicidade denominada *locus of enterocyte effacement* (LEE) (DEBROY & MADDOX, 2001; SILVA & SILVA, 2006).

Escherichia coli enteropatogênica é considerada uma importante causa de diarreia infantil, sendo associada com a subnutrição e condições precárias de saneamento. No paciente acometido ocorre mal-estar, vômitos e diarreias aquosas podendo ter presença de sangue, após 12 a 26 horas da ingestão do micro-organismo (DEBROY & MADDOX, 2001).

f) *E. coli* produtora de Shiga toxina (STEC)

O patotipo STEC compreende cepas que produzem citotoxinas Stx, semelhantes à toxina de Shiga (Stx1 e Stx2). O sub-grupo que se destaca neste patotipo é *E. coli* entero-hemorrágica (EHEC), também denominadas de *E. coli* verotoxigênicas ou produtoras de verotoxinas (VTEC ou Shiga-like

toxina). Esse sub-grupo produz toxinas similares ou idênticas àquela produzida pela bactéria *Shigella dysenteriae* tipo I. As cepas de EHEC também têm a presença da ilha de patogenicidade LEE que auxiliam na diferenciação deste subgrupo frente às STEC (KAPER et al, 2004). Micro-organismos deste subgrupo podem causar colite hemorrágica (HC), síndrome hemolítica urêmica (SHU ou HUS) e a púrpura trombótica trombocitopênica (TPP).

A toxina Stx é produzida no cólon após a invasão, sendo absorvida pela mucosa e transportada por via hematogênica até o rim. Nesse sítio causa lesão nas células endoteliais e na microvasculatura através de uma combinação de toxicidade direta e indução de citocinas locais e produção de quimiocina. Este processo resulta na inflamação renal, podendo progredir à HUS, que é caracterizada por anemia hemolítica, trombocitopenia e potencialmente fatal pela insuficiência renal aguda. Além disso, a toxina Stx induz apoptose em células epiteliais do intestino, resultando em diarreia sanguinolenta, colite hemorrágica, necrose e perfuração intestinal (KAPER et al., 2004).

As cepas EHEC, por possuírem a ilha de patogenicidade LEE, codificam um sistema de secreção do tipo III e proteínas efetoras semelhantes às aquelas que são produzidas pelas EPEC. Estudos indicam a importância da adesina intimina na colonização intestinal e o aparecimento de anticorpos séricos contra intimina e outras proteínas codificadas por LEE em pacientes com quadro de HUS. Acredita-se que o principal sorotipo (EHEC O157:H7) pertencente a esse sub-grupo evoluiu a partir de cepas EPEC que adquiriram a capacidade de produzir Stx. Outros fatores de aderência têm sido descritos para cepas de EHEC, como é o caso da adesina ToxB, codificados em plasmídeo presente em EHEC (KAPER et al., 2004; PIGOTT, 2008).

O principal sítio de colonização de EHEC é o trato intestinal de bovinos; nessa espécie não causam sintomas clínicos. Os primeiros surtos reportados em humanos foram associados ao consumo de hambúrgueres de carne bovina, insuficientemente cozidos. Atualmente, vários alimentos têm sido associados com surtos, incluindo salsicha, leite não pasteurizado, frutas e vegetais. A dose necessária é extremamente baixa para a ocorrência da doença ($<10^2$). Qualquer indivíduo é considerado suscetível à colite hemorrágica, porém crianças e idosos constituem o grupo de risco. Nesse grupo a taxa de letalidade chega a 10% (CDC, 2011).

1.1.1.1. *Escherichia coli* em suínos

Escherichia coli, além de ser uma bactéria comensal no trato intestinal de suínos, inclui cepas responsáveis por manifestações clínicas nesta espécie. Dentre elas, há cepas responsáveis por causar diarreias, podendo ocorrer alterações patológicas que comprometem a integridade da mucosa, causando assim ativação de mecanismos secretórios e efusão de conteúdo proteico para o lúmen intestinal, levando a desidratação intensa (ZLOTOWSK et al., 2008; VANNUCCI & GUEDES, 2009), e também podem ocasionar doenças extra-intestinais, como por exemplo as infecções do trato urinário (FAIRBROTHER & GYLES, 2006).

Os patotipos mais relacionados a doenças em suínas são ETEC, STEC (também chamadas de *E. coli* produtoras da doença do edema – EDEC), EPEC (também chamada de *E. coli* “*attaching effacing*” – AEEC), e *E. coli* uropatogênica (UPEC), considerada extra-intestinal.

As cepas enterotoxigênicas de *E. coli* (ETEC) são responsáveis pela colibacilose, esta considerada uma das enfermidades entéricas de maior impacto na suinocultura, acometendo principalmente animais neonatos e no pós-desmame. Sua adesão à mucosa intestinal por meio de fímbrias e a produção de uma ou mais enterotoxinas termolábeis (LT-I e LT-II) e termoestáveis (STa, STb e EAST1) determinam o aparecimento do quadro de diarreia e desidratação. A toxina STb é tipicamente associada às cepas enterotoxigênicas encontradas em suínos. As fímbrias presentes nas cepas de *E. coli* associadas à diarreia são: F4 (K88), F5 (K99), F6 (P987), F41 e F18. As ETEC podem ainda produzir outro tipo de adesina, envolvida na aderência difusa (AIDA), podendo estar presentes juntamente com fímbrias F18, sendo relatado seu papel na colonização de algumas cepas de ETEC em diarreia pós-desmame na colonização do intestino de suínos. Ela medeia à adesão a uma variedade de superfícies e promove a formação de biofilme (FAIRBROTHER et al., 2005).

A colibacilose neonatal ocorre em decorrência do contato do leitão suscetível com as cepas patogênicas. Esta doença acomete leitões de zero a quatro dias de idade, após a colonização do intestino delgado com cepas ETEC, ocasionando diarreia aquosa amarelada e forte desidratação. A

letalidade é alta, podendo ocorrer mortes de leitões antes da observação da sintomatologia típica (FAIRBROTHER & GYLES, 2006; MORÉS & MORENO, 2007a).

No período pós-desmame, observa-se a ocorrência de estresse e redução nos níveis de anticorpos colostrais, além da elevação do pH estomacal no leitão, acarretando em uma redução na atividade bactericida gástrica. Com isso, pode haver um aumento no número de *E. coli* hemolíticas em relação às não hemolíticas no trato gastrointestinal, resultando na colibacilose da terceira semana. Nesta doença ocorre diarreia com consistência variando de pastosa a cremosa e uma desidratação moderada, entretanto sua mortalidade é considerada baixa (FAIRBROTHER et al., 2005; DUBREUIL, 2008; MORÉS & MORENO, 2007b). Infecções por cepas de EPEC (ou AEEC) causam diarreias neonatais e pós desmame associadas à má absorção de nutrientes. Não há dados relativos à prevalência da infecção por este patotipo no Brasil (COSTA et al., 2009a).

Outra apresentação clínica, ocasionada pelo patotipo *E. coli* verotoxigênicas (VTEC ou EHEC) é a doença do edema, que acomete leitões 4 a 15 dias pós-desmame. Para os suínos, a toxina Stx2 é considerada a mais importante, ocorrendo à enfermidade quando cepas aderem ao intestino delgado por meio de fímbrias F18a/b e se multiplicam, produzindo a Stx2 que é absorvida e sofre disseminação sistêmica. Essa toxina inativa a síntese protéica em células do endotélio vascular do intestino delgado, tecido subcutâneo e encéfalo. A lesão nas células endoteliais induz o aparecimento do edema e sinais nervosos característicos da enfermidade. A não expressão de receptores para as fímbrias F18a/b faz com que alguns animais apresentem resistência natural a esta doença (FAIRBROTHER & GYLES, 2006).

Em estudo conduzido em Santa Catarina objetivando determinar os agentes bacterianos associados com a ocorrência de diarreia em suínos em diferentes faixas etárias, a prevalência de *E. coli* foi elevada nas fases de maternidade (76%), creche (53,6%) e terminação (26,9%). Os tipos fimbriais mais prevalentes em *E. coli* isolada na fase de maternidade foram F5 (20%), F6 (16,3%), F42 (6,8%) e F41 (5,7%); já nas fases de creche e terminação, predominaram cepas com fímbrias F4 (11,2% e 5,4%, respectivamente) (MENIN et al., 2008).

Em outros estudos conduzidos no Brasil, a prevalência dos diferentes patótipos de *E. coli* em leitões que apresentavam diarreia foi de: 27,7% a 71,4% para ETEC; 2,5% para STEC, 32,7% para *E. coli* não enterotoxigênica; e 43,8% sem padrão específico (ALMEIDA et al., 2007; KOLLING, 2009; COSTA et al., 2010). Em relação aos fatores de virulência mais encontrados, pesquisa envolvendo 40 isolados clínicos de suínos com diarreia e 13 isolados ambientais demonstrou gene que codifica a toxina Stb em 50% dos isolados clínicos, seguido por Sta e LT, com 35%. Dentre os fatores de adesinas pesquisados, a F18 foi encontrada em 27,5% das amostras (COSTA et al., 2006).

Em relação às cepas que provocam infecções no trato urinário, destacam-se as *E. coli* uropatogênicas (UPEC). As fêmeas são mais suscetíveis a essas infecções, devido a sua anatomia e fisiologia. Os fatores associados à patogenicidade destas cepas estão a produção de hemolisinas, aerobactina, fímbrias não hemaglutinantes 987P (F6), fímbrias hemaglutinina manose-sensíveis (HAMS), fímbrias hemaglutininas manose-resistentes (HAMR), cápsula, resistência ao soro e produção do fator citotóxico necrotizante (CNF). A infecção do trato urinário pode acarretar em diminuição na produtividade devido à sintomatologia clínica, como redução de peso dos leitões e mortalidade (BRITO et al., 2004).

1.1.1.2. *Escherichia coli* como indicador de contaminação fecal em alimentos

Um indicador é uma medida que reflete uma característica ou aspecto particular, em geral não sujeitos à observação direta. Tem como propósito refletir a situação atual do ambiente amostrado (COSTA et al., 2009b). Em alimentos, os micro-organismos indicadores são grupos ou espécies que quando isolados, indicam a ocorrência de contaminação, provável presença de patógenos ou sugerem um processo de deterioração do alimento. Um bom micro-organismo indicador deve estar sempre presente, ser de fácil detecção e quantificação em todos os alimentos, além de ser facilmente distinguível da microbiota normal e apresentar crescimento com correlação direta, negativa com a qualidade do produto. Além disso, seu isolamento não deve ser afetado

por componentes dos alimentos (MILLER & DICKSON, 2009). Com o uso de indicadores, pode-se também demonstrar se as condições sanitárias estão adequadas durante o processamento, produção ou armazenamento (LANDGRAF, 1996).

Os coliformes, micro-organismos capazes de fermentar lactose na presença de bile a uma temperatura de 37°C, podem ser utilizados como indicadores gerais da qualidade do processo. Além desses, podem ser adotados os coliformes fecais, caracterizados como o grupo de coliformes capazes de multiplicação em temperatura de 45°C, sendo, por isso, denominados termotolerantes. Os coliformes termotolerantes são considerados indicadores de contaminação de origem fecal de alimentos. Entretanto entre as espécies que compreendem esse grupo, apenas *E. coli* apresenta forte associação com a contaminação fecal e presença de patógenos entéricos (MILLER & DICKSON, 2009). Porém, durante o processamento de alimentos a contaminação de origem ambiental também pode ser importante para a introdução de patógenos que poderão chegar ao consumidor. Dessa forma, a adoção dos coliformes totais é cada vez mais frequente no monitoramento da qualidade higiênica dos alimentos (ADAMS & MOSS, 2000b).

A contaminação de carcaças suínas por *E. coli* ocorre principalmente durante a etapa de evisceração, podendo a carcaça chegar na etapa de pré-resfriamento com a presença de bactérias de origem fecal. O processo de resfriamento tem a capacidade de reduzir o número de micro-organismos nas carcaças, porém, uma quantidade significativa de carcaças poderá permanecer contaminada ao final do período de resfriamento (LENAHAN et al., 2009).

O significado do monitoramento de indicadores para prever a presença de *Salmonella* em carcaças suínas tem sido amplamente estudado. Ruby & Ingham (2009) sugeriram que a ausência de coliformes totais pode ser um critério útil para a previsão de ausência de *Salmonella* em carcaça. A mesma situação não foi encontrada em estudo realizado na Bélgica, onde a contagem média de *E. coli* encontrada em carcaças suínas resfriadas variou de 0,43 a 1,11 log UFC/cm², e não apresentou relação significativa com a prevalência de bactérias do gênero *Salmonella* (DELHALLE et al., 2008). Entretanto, em estudo conduzido por Ghafir et al. (2008), a contagem de *E. coli* foi significativamente maior em carcaças suínas positivas para *Salmonella* sp.,

levando os autores a considerar *E. coli* um bom indicador para monitorar o controle de contaminação fecal e presença de patógenos de origem entérica em carcaças.

1.2. Gênero *Salmonella*

O primeiro relato deste gênero ocorreu em 1886, sendo considerado o agente etiológico da peste suína clássica (PSC), por Daniel Elmer Salmon e Smith. Posteriormente, a etiologia viral da doença foi determinada, sendo a bactéria, identificada como *Salmonella Choleraesuis*, caracterizada como agente secundário e oportunista da infecção (GRIFFITH et al., 2006).

As bactérias pertencentes a este gênero são bacilos Gram-negativos, móveis por possuírem flagelos peritríqueos, com exceção dos sorovares *Salmonella Gallinarum* e *S. Pullorum*. São bactérias anaeróbias facultativas, oxidase negativa, catalase positiva, indol e teste de Voges-Proskauer negativo e vermelho de metila positiva. Utilizam citrato como única fonte de carbono e são capazes de descarboxilar lisina e ornitina. São produtoras de ácido sulfídrico (H₂S), não hidrolisam ureia e reduzem nitrato a nitrito. Geralmente fermentam arabinose, maltose, manitol, manose, ramanose, sorbitol, trealose e xilose, e não fermentam lactose (HOLT et al., 1994). Podem crescer em temperatura de 7° a 45°C, em pH variando de 4,5 a 9, sobrevivendo também ao congelamento e desidratação por longos períodos, quando em presença de matéria orgânica (D'AOUST, 1997; GRIFFITH et al., 2006). Porém seu crescimento ótimo ocorre em temperatura de 35-37°C e em pH 6,5-7,5 (HOLT et al., 1994).

A classificação do gênero *Salmonella* está em constante mudança, sendo dividido em duas espécies: *S. enterica* e *S. bongori* (HOLT et al., 1994). Por sua vez, *S. enterica* está dividida em seis subespécies: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *díarizonae*, *houtenae* e *indica*.

A classificação mais empregada do gênero *Salmonella* é aquela realizada pelo Esquema Kauffmann-White, baseada na caracterização dos antígenos somáticos (O), representados por lipopolissacarídeos da parede celular, e flagelares (H), de teor protéico. Nos sorovares *S. Thyphi*, *S. Paratyphi* e *S. Dublin* há ainda o antígeno capsular único (Vi), que contribui para a

identificação e virulência dos mesmos (D'AOUST, 1994). No total, existem 2.610 diferentes sorovares de *Salmonella*, sendo que 1.547 são pertencentes ao grupo *S. enterica* subsp. *enterica* (GUIBOURDENCHE et al., 2010). Os sorovares com maior potencial zoonótico pertencem ao grupo da subespécie *enterica*.

A manifestação clínica de salmonelose em humanos depende do agente causador. *Salmonella* Typhi é responsável pela forma entérica (tifóide ou paratifóide), doença caracterizada por infecção sistêmica e febre alta com duração de várias semanas, com letalidade podendo chegar a 15% (BRASIL, 2008a). Em indivíduos imunocompetentes, a maior parte dos sorovares não tifóides estão associadas com gastroenterite, ocasionando uma infecção localizada no íleo terminal e cólon, com manifestação de febre, diarreia e cólicas intestinais. No entanto, perdas de função da barreira mucosa em indivíduos imunocomprometidos podem resultar no desenvolvimento de bacteremia (SANTOS et al., 2009).

A invasão das células epiteliais está associada ao sistema de secreção tipo III (T3SS-1), o qual permite que o patógeno induza rearranjos na actina celular, induzindo a formação de projeções na membrana citoplasmática que englobam a bactéria e a internalizam em fagossomos. Já a invasão das células M está associada a outro tipo de sistema de secreção tipo III (T3SS-2), que altera o percurso de *Salmonella* no interior dos macrófagos da Placa de Peyer, possibilitando sua sobrevivência. Dentro dos macrófagos, as bactérias podem se multiplicar e infectar as células adjacentes. Ambos os sistemas de secreção do tipo III contribuem para a chegada da bactéria à lâmina própria intestinal, resultando em inflamação intestinal e enterocolite (SANTOS et al., 2009). A diarreia provocada é resultado do aumento na permeabilidade vascular, edema e perda de proteínas plasmáticas entéricas, além de ocorrer micro-erosões no intestino, que facilitam a passagem de fluído intersticial para a luz intestinal.

Estima-se que a dose infectante do gênero *Salmonella* seja 10^6 a 10^8 unidades formadoras de colônias (UFC), entretanto a epidemiologia de vários surtos mostrou que, em muitos casos, a dose infectante pode ser mais baixa, depende da virulência de cada cepa, do alimento envolvido, idade e estado imune do paciente (HUMPHREY, 2004). A partir de dados de surtos estudados, estima-se que 10 células já podem causar a doença, e que a dose pode ser

ainda mais baixa, quando as bactérias estiverem associadas a alimentos com elevado teor de gordura, pela proteção contra os efeitos do ácido gástrico (MØLBAK et al., 2006).

Os sintomas da salmonelose no humano iniciam entre 8 e 18 horas após a ingestão de alimento contaminado e incluem dor de cabeça, calafrios, vômito e diarreia, seguidos por febre. A infecção geralmente é auto-limitante, havendo a cura após 2 a 5 dias. Após a recuperação, no entanto, os pacientes podem excretar *Salmonella* nas fezes por várias semanas.

A salmonelose ocorre tanto em casos esporádicos quanto em surtos. A sua incidência é difícil de ser avaliada, uma vez que muitos países não têm um sistema de vigilância epidemiológica efetivo. Mølbak et al. (2006) sugerem que para cada caso relatado de salmonelose, 3,8 a 38 pessoas na população efetivamente adoeceram. Portanto, a salmonelose é considerada como a principal doença transmitida por alimentos em estudo realizado na Inglaterra, País de Gales e Austrália, juntamente com a infecção pelo gênero *Campylobacter*. Nos Estados Unidos estima-se que o gênero *Salmonella* seja responsável por 11% (1,0 milhão) dos casos de doenças transmitidas por alimentos notificados, além de 35% dos casos que resultam em hospitalização e 28% dos óbitos em decorrência de DTAs (SCALLAN et al., 2011). No Brasil, *Salmonella* também é o principal agente identificado em DTAs, sendo responsável por 19,16% dos casos entre 2000 a 2011, com 1660 casos confirmados (SVS, 2011).

Salmonella Typhimurium e *S. Enteritidis* são os principais sorovares associados com salmonelose transmitida por alimento. *Salmonella* Enteritidis é principalmente associada ao consumo de produtos avícolas, e *S. Typhimurium* pode ser veiculada por uma variedade de alimentos, principalmente produtos de origem animal. O número de casos associados ao consumo de produtos de origem suína ainda é desconhecido, porém acredita-se que estes produtos sejam uma importante fonte de infecção para seres humanos. A União Europeia estima que 10 a 20% dos casos de salmonelose estejam associados a produtos desta origem (EFSA, 2010).

1.2.1. *Salmonella* sp. em suínos

A salmonelose clínica em suínos depende de fatores relacionados com a patogenicidade da cepa, assim como a pressão de infecção e a resistência do hospedeiro. *Salmonella* Choleraesuis é considerado o sorovar adaptado ao hospedeiro suíno, não sendo necessária uma dose infectante elevada para ocorrência de quadro clínico. Devido sua capacidade invasiva, antes mesmo da ocorrência de diarreia ocorre septicemia, resultando em elevada mortalidade (GRIFFITH et al., 2006). No Brasil, a ocorrência clínica deste sorovar é rara. No Rio Grande do Sul, o último registro das formas entéricas e septicêmicas causadas por *S. Choleraesuis* foi feito por Barcellos et al. (1984). Da mesma forma, há apenas relatos de casos esporádicos de diarreia associadas ao sorovar não adaptado *S. Typhimurium* (MORÉS & ZANELLA, 2001).

Geralmente a transmissão ocorre pela via fecal-oral, já que *Salmonella* é eliminada em grande número nas fezes de suínos clinicamente infectados. A infecção compreende colonização, invasão e multiplicação bacteriana. Após a ingestão, pode colonizar e persistir nas tonsilas do palato mole (GRIFFITH et al., 2006), entretanto o mecanismo de permanência no epitélio tonsilar ainda não está totalmente elucidado (HORTER et al., 2003). *Salmonella* sp. consegue adaptar-se e sobreviver à acidez do estômago, possibilitando ao micro-organismo alcançar o intestino delgado (BOYEN et al., 2008). Ao encontrar uma alta concentração de sais biliares, lisozimas e defensivas na parte superior do intestino delgado, a bactéria tem preferência por colonizar o íleo (GRIFFITH et al., 2006).

Após a colonização desse sítio, ocorre a etapa da invasão das células epiteliais da porção apical das vilosidades, ou das células M, localizadas nas placas de Peyer. Os micro-organismos podem ainda alcançar linfonodos regionais, fazendo com que o animal torne-se portador. A infecção sistêmica pode ocorrer quando há disseminação pela via hematogena ou linfática (GRIFFITH et al., 2006). Um grande número de sorovares não produz doença clínica nos suínos, mas estão associados ao aparecimento de animais portadores assintomáticos. Estudos realizados no Sul do Brasil relatam prevalências entre 50% e 83% de suínos portadores ao abate. Os sorovares de *Salmonella* mais encontrados nesses estudos foram Panama (29,9% a

37,50%), Bredeney (24,1%), Typhimurium (20,7% a 24,34%), Agona (19,91%) e Derby (13,27%) (BESSA et al., 2004; CASTAGNA et al., 2004; BANDEIRA et al., 2007; SCHWARZ et al., 2009). No Estado do Mato Grosso, a prevalência de portadores encontrada ao abate foi menor (16,6%), com os seguintes sorovares mais frequentemente isolados: Derby (16%), Typhimurium (14%) e Give (12%) (SILVA et al., 2009).

A diferença na frequência de animais portadores entre as regiões de produção de suínos pode ser o reflexo de diversos fatores relativos com a estrutura de instalações e práticas de manejo dos animais. Há diversos fatores de risco associados ao elevado número de suínos infectados por *Salmonella*. Entre esses, destacam-se os fatores relacionados à biossegurança, como: controle de roedores, limpeza e desinfecção das instalações durante o vazio sanitário, destino dos dejetos e mistura de animais de muitas origens (KICH et al., 2005; FOSSE et al., 2009). A alimentação também pode ser considerada um fator de risco, pois diversos estudos indicam que a ração é uma fonte de transmissão importante para os suínos (SWANENBURG et al., 2001; KICH et al., 2005; EFSA, 2008a, FOSSE et al., 2009).

O transporte dos suínos e a mistura de lotes na chegada aos matadouros-frigoríficos são etapas cruciais para o aumento da excreção de *Salmonella* em animais portadores, tornando as pocilgas de espera, onde os suínos são mantidos de 2 a 8 horas antes do abate, uma importante fonte de infecção (SWANENBURG et al., 2001). A limpeza das pocilgas entre os diferentes lotes de esperas pode não interferir na contaminação pelo micro-organismo, uma vez que a limpeza e desinfecção eficaz desses locais são difíceis de serem alcançadas (HURD et al., 2001; ROSTAGNO et al., 2009). Os suínos em contato com o ambiente contaminado e com animais portadores podem infectar-se em poucas horas e carrear *Salmonella* em seu trato gastrointestinal no momento do abate (HURD et al., 2001). Esses animais, por sua vez, são importante fonte de contaminação para os produtos, pois estima-se que 70% das carcaças contaminadas por *Salmonella* são provenientes de animais portadores (BERENDS et al., 1997; BOTTELDOORN et al., 2003).

Em estudo realizado no Canadá, Letellier et al. (2009) encontraram 43,4% (56/129) de carcaças suínas, provenientes de lotes soro-negativos, contaminadas por *Salmonella* no pré-resfriamento, indicando que a infecção

dos animais durante o pré-abate ou a contaminação da carcaça na própria linha de abate. Porém no mesmo estudo, lotes com a sorologia positiva apresentaram frequência de 67% de carcaças positivas no final da linha do abate, demonstrando que a prevalência de animais infectados na granja esteve fortemente associada com a contaminação de carcaças.

A disseminação de *Salmonella* ao longo de toda a cadeia produtiva pode ser ilustrada pelo estudo longitudinal realizado no Brasil por Kich et al. (2011). Nesse estudo, doze lotes de granjas integradas a uma agroindústria foram acompanhados do alojamento na terminação ao abate. A contaminação residual no piso foi observada em 26% (16/61) das baias amostradas na terminação, 29% (42/143) dos lotes de ração fornecidos aos animais eram positivos para *Salmonella* e 90% (36/40) de amostras colhidas nas pocilgas de espera do matadouro-frigorífico tinham a presença da bactéria. Entre os animais abatidos, 46% (220/478) eram portadores de *Salmonella* em linfonodos mesentéricos e 24% (62/260) das carcaças originadas desses lotes foram positivas após o resfriamento. Por meio da genotipificação dos isolados de *Salmonella*, observou-se que aqueles encontrados em linfonodos de animais portadores foram associados a isolados obtidos de todas as fontes investigadas.

Algumas etapas do processo de abate (Figura 1) possibilitam o aumento da contaminação de carcaças. A etapa de escaldagem é considerada um ponto crítico, pois grande número de animais passam por um mesmo volume de água. Entretanto a medida de controle adotada é o monitoramento da temperatura que deve estar acima de 60°C, evitando assim a contaminação cruzada, mas não eliminando as bactérias presentes na carcaça (BOLTON et al., 2002).

A etapa seguinte, depilação, também possibilita contaminação da carcaça, pois a carga bacteriana encontrada na pele do próprio animal pode ser espalhada. Esta etapa é responsável por 5 a 15% da contaminação de carcaças durante todo o processo de abate (BORCH et al., 1996; BERENDS et al., 1997; EFSA, 2010).

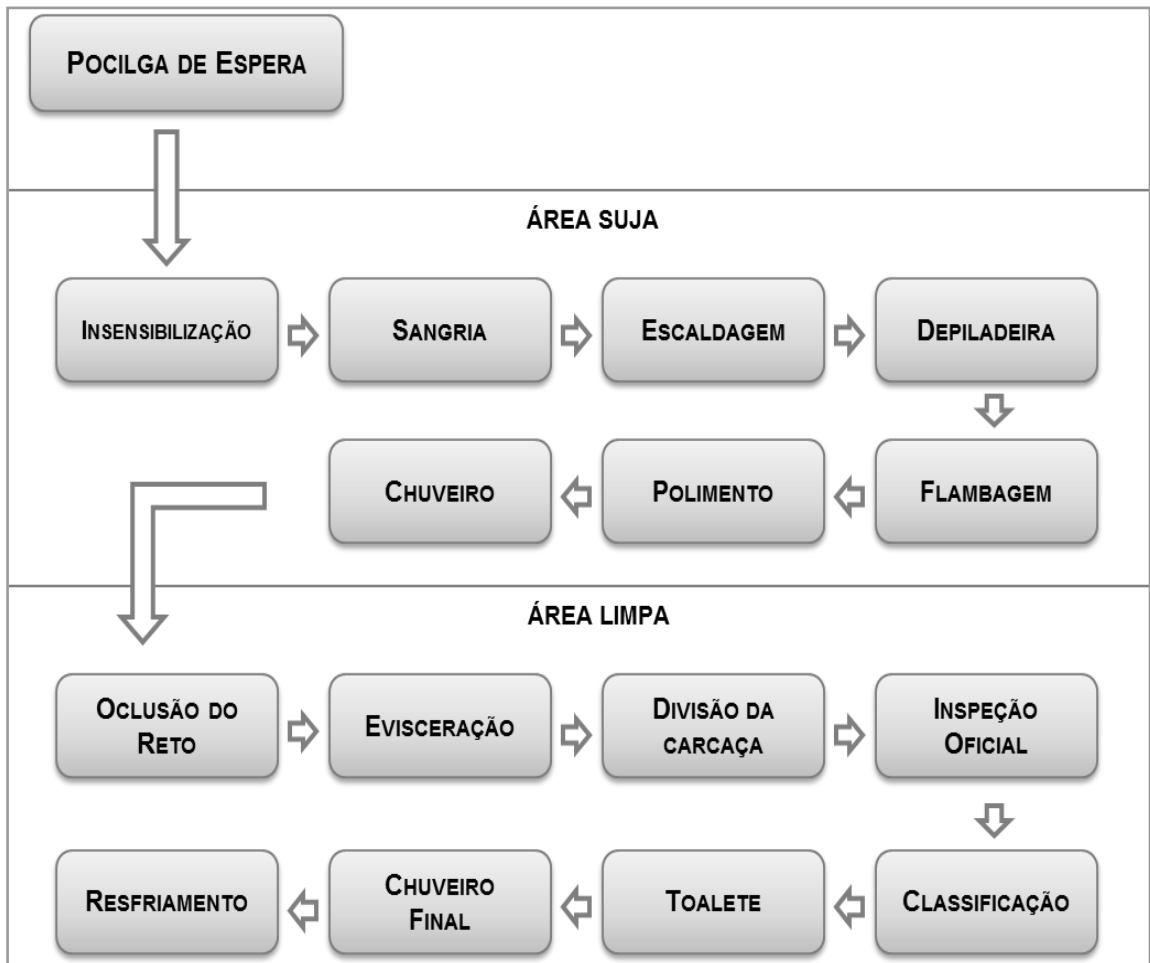


Figura 1 – Fluxograma da linha de abate de suínos, da recepção dos animais ao resfriamento das carcaças.

A etapa seguinte, flambagem, garante redução significativa da carga bacteriana presente nas carcaças (BORCH et al., 1996; EFSA, 2010), entretanto algumas bactérias podem sobreviver em dobras profundas da pele e folículos dos pelos (BERENDS et al., 1997). É considerada a única etapa no processo de abate em que *Salmonella* pode ser removida (PEARCE et al., 2004), mas a eficácia desta etapa é proporcional a qualidade da técnica usada (manual ou automática), pois depende do tempo de exposição, equipamento utilizado e temperatura. Apesar da eficiência desta etapa, pode ocorrer recontaminação na etapa subsequente de polimento, pois o equipamento é de difícil higienização (BORCH et al., 1996).

Já na área limpa, a evisceração confere a etapa de maior risco, responsável por 55 a 90% da contaminação de carcaças no processo de abate (BERENDS et al., 1997), pois se realizada por técnicas incorretas, possibilita o

extravasamento fecal. Com isso também ocorre contaminação dos próprios equipamentos, fazendo com que as carcaças seguintes possam sofrer contaminação (BOTTELDOORN et al., 2003; EFSA, 2010; DE BUSSEER et al., 2011).

Durante o processamento da carcaça na área limpa, outros veículos de contaminação podem ser apontados. As águas residuais e os aerossóis gerados no enxágue das carcaças podem carrear micro-organismos, sendo fonte de contaminação cruzada no matadouro-frigorífico (BERENDS et al., 1997; BOTTELDOORN et al., 2003). Portanto, uma carcaça mesmo sendo originada de um suíno infectado por *Salmonella* pode chegar ao final da linha do abate livre do patógeno, caso o processo de abate seja realizado adequadamente, entretanto o inverso também é verdadeiro, em que carcaças de animais negativos para *Salmonella* cheguem ao final da linha contaminadas, devido falhas durante a linha de abate, a partir de outras carcaças ou equipamentos. Além disso, durante todo o processo de abate, na área limpa, não existe uma etapa que reduza a contaminação das carcaças, possibilitando que as mesmas cheguem positivas na etapa de pré-resfriamento.

A frequência encontrada de carcaças positivas para *Salmonella* é variável entre regiões e estabelecimentos. Alguns estudos demonstram uma prevalência alta, variando de 35,9% a 67% de carcaças positivas para *Salmonella* (BOTTELDOORN et al., 2003; LETELLIER et al., 2009; VAN HOEK et al., 2012). Em outros estudos foram relatadas prevalências menores, como o estudo realizado por Silva (2011), no Sul do Brasil, que encontrou 14,7% de carcaças positivas na etapa de pré-resfriamento, entretanto, a frequência foi variável (0 a 69,2%) entre matadouros-frigoríficos visitados. Na Itália, a prevalência encontrada foi 14,1% (PIRAS et al., 2011), 12,9% em Portugal (VIEIRA-PINTO et al., 2005), na França 10,5% (BOUVET et al., 2003), 10,3% na Alemanha (KÄSBOHRER et al., 2000), e na Dinamarca 9,6% (SØRENSEN et al., 2004) ou 1,4% (SØRENSEN et al., 2007) em dois estudos distintos.

Na literatura, os sorovares mais encontrados em carcaças são Typhimurium e Derby (BOUVET et al., 2003; EFSA, 2009; DE BUSSEER, 2011; PIRAS et al., 2011; SILVA, 2011), entretanto outros sorovares são relatados com frequência, como Altona, Brandendrug, Bredeney, Infantis, Panama e Rissen (SØRENSEN et al., 2004; KICH et al., 2011; VAN HOEK et al., 2012).

1.3. Gênero *Listeria*

O primeiro relato de isolamento de *Listeria* ocorreu em 1926, por Murray, que a considerou agente causador de uma infecção sistêmica observada em animais de laboratório. Na década de 1980, tornou-se evidente que a doença também podia afetar seres humanos, podendo ser transmitida pelo consumo de alimentos contaminados (WAGNER & MCLAUCHLIN, 2008).

As espécies do gênero *Listeria* compreendem bacilos Gram-positivos pleomórficos, geralmente apresentando-se isolados ou em cadeias curtas. São catalase positiva, oxidase negativa, anaeróbios facultativos, não formadores de esporos, e não produtores de indol e gás sulfídrico. Fermentam a glicose, com produção de ácido láctico sem formação de gás. Apresentam uma ampla faixa de crescimento, variando entre 0-45°C, sendo a temperatura de crescimento ótimo entre 30-37°C. Por contarem com um sistema de transporte energético resistente ao frio, que estimula o metabolismo em baixas temperaturas, propiciando alta concentração de substratos intracelulares, são capazes de multiplicar em temperatura de refrigeração (LUDWING et al., 2009).

Na temperatura de 20-25°C, apresentam motilidade em ágar semi-sólido, exibindo turvação do meio em forma de guarda-chuva. Os flagelos peritríquios são os responsáveis pelo movimento característico, denominado tombamento ou turbilhonamento, que pode ser visto pela observação de suspensões bacterianas ao microscópio óptico. Quando incubadas à 37°C, a produção de flagelos é reduzida notavelmente, tornando a bactéria imóvel (LUDWING et al., 2009).

Além da capacidade de multiplicação em larga faixa de temperatura, apresenta crescimento em ambiente com pH 4,6 a 9,5 e com atividade de água de até 0,92, e concentração de 10% de NaCl. Algumas linhagens sobrevivem em ambientes com até 20% de NaCl e 0,83 de atividade de água (SILVA et al., 1998; LUDWING et al., 2009).

De acordo com o Manual de Bergey há seis espécies do gênero *Listeria* (*L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri*, *L. ivanovii*, *L. grayi*) (LUDWING et al., 2009). Recentemente, mais duas espécies foram identificadas, *L. marthii* e *L. rocourtiae* (EUZE'BY, 2010a; EUZE'BY, 2010b).

Todas as espécies do gênero *Listeria* são amplamente distribuídas na natureza, tendo sido isoladas de solo, água, ração animal, carne fresca e congelada, ambiente de matadouro-frigorífico e das fezes de animais saudáveis, incluindo seres humanos (MCLAUCHLIN et al., 2004).

Listeria monocytogenes é a espécie patogênica mais importante, tanto para animais quanto para o homem, porém, já foram relatados casos de infecção humana causados por *L. ivanovii* (CUMMINS et al., 1994; LESSING et al., 1994) e um único caso de listeriose humana devido a *L. seeligeri* (ROCOURT et al., 1989). *Listeria ivanovii* é responsável por casos de listeriose em animais domésticos, especialmente em ovinos, e há raras evidências de infecções causadas por *L. innocua* em animais domésticos (WALKER et al., 1994). As demais espécies não foram relatadas como patogênicas.

1.3.1. *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes é um patógeno intracelular facultativo que tem a capacidade de resistir à destruição quando no interior de macrófagos, além de ser capaz de invadir muitos tipos de células não-fagocíticas (KATHARIOU, 2002). Possui características que a diferem bioquimicamente das outras espécies, como a produção de compostos ácidos a partir de L-ramanose e α -metil-D-manosídio (LUDWING et al., 2009). Apresenta o gene *hlyA*, que codifica a enzima fosfatidilinositol-fosfolipase C, responsável pela hemólise apresentada em ágar sangue e a reação positiva de CAMP na presença de *Staphylococcus aureus* (REISSBRODT, 2004). Esta espécie é sub-dividida em 13 diferentes sorovares (1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4ab, 4b, 4c, 4d, 4e e 7), de acordo com antígenos somáticos (O) e flagelar (H) (QUINN et al., 2011).

A patogenia da infecção bacteriana é associada à sua capacidade de atravessar três barreiras do hospedeiro: intestinal, encefálica e placentária, provocando assim a doença (KATHARIOU, 2002). O micro-organismo penetra no intestino, pelas placas de Peyer ou invadindo enterócitos, sendo este processo de endocitose promovido por fatores de virulência que incluem a hemolisina (listeriolisina O), fosfolipases e ação sobre a actina celular (ActA). Para multiplicar intracelularmente, o micro-organismo tem que sobreviver no fagossomo e escapar rapidamente antes da sua fusão ao lisossomo. O interior

do fagossomo, por ter um pH mais ácido, estimula a bactéria a liberar a listeriolisina O (LLO), fazendo com que a membrana do fagossomo seja desestabilizada até seu completo rompimento, permitindo que as bactérias sejam liberadas no citosol da célula hospedeira (VÁSQUEZ-BOLAND et al., 2001). Durante a replicação intracelular, a actina celular é polimerizada ao redor da superfície bacteriana, impulsionando-a no interior da célula hospedeira até as células adjacentes. A mobilidade intracelular associada à formação de pseudo-invaginações para células adjacentes, e o mecanismo de escape do vacúolo com ajuda da LLO e das fosfolipases, torna possível a repetição do ciclo de invasão, evitando, assim, o contato da bactéria com os mecanismos de defesa do hospedeiro (LAMONT et al., 2011).

A disseminação sistêmica ocorre após as células bacterianas terem atingido os linfonodos mesentéricos e pode ocorrer pela via hematogena ou linfática. O fígado desempenha papel importante na eliminação do micro-organismo e controle da infecção. A invasão dos hepatócitos provoca uma intensa reação inflamatória. Os neutrófilos destroem os hepatócitos infectados forçando a liberação das bactérias que são por sua vez destruídas. Se a infecção não for controlada no fígado, o micro-organismo pode ser disseminado pela via hematogena até o sistema nervoso central ou placenta, causando a forma mais grave da listeriose (LAMONT et al., 2011).

A forma grave da listeriose apresenta-se sob forma de meningite e meningo-encefalite (COSSART & TOLEDO-ARANA, 2008), ou manifestar-se como severa infecção no feto ou recém-nascido. Em indivíduos imunossuprimidos, as principais apresentações são a infecção do sistema nervoso central e/ou septicemia (MCLAUHLIN et al., 2004). A taxa de letalidade na listeriose chega a 20-30%, porém em grupos de risco este percentual pode alcançar 75% (VITAS et al., 2004).

Em indivíduos imunocompetentes, causa gastroenterite febril, com sintomas semelhantes a uma gripe, sendo muitas vezes sub-diagnosticada. Nos indivíduos pertencentes ou não ao grupo de risco, a principal fonte de transmissão de *L. monocytogenes* são os alimentos contaminados. O período de incubação após a ingestão do alimento varia, podendo chegar até 90 dias, tornando difícil a identificação do alimento envolvido (COSSART & TOLEDO-ARANA, 2008).

Diversos alimentos têm sido associados com a transmissão de *L. monocytogenes*, incluindo vegetais, produtos lácteos e cárneos (HELLSTRÖM et al., 2010). Os sorovares responsáveis por 90% dos casos de listeriose humana são 1/2a, 1/2b e 4b (HOFER et al., 2000), sendo o sorotipo 4b identificado principalmente em produtos cárneos e o sorotipo 1/2a mais frequente em produtos lácteos (ROCOURT et al., 1989; GILOT et al., 1996; HOFER et al., 2000; VITAS et al., 2004).

Os produtos lácteos são os mais envolvidos em surtos de listeriose em todo o mundo, porém alguns casos associados ao consumo de produtos de origem suína podem ser encontrados na literatura. Entre 1989 e 1990, uma epidemia de listeriose envolveu 300 pessoas no Reino Unido, sendo o produto relacionado patê de carne suína (MCLAUCHLIN et al., 1991). Um surto de listeriose envolvendo 279 pessoas ocorreu na França em 1992, tendo a língua suína como veículo de *L. monocytogenes* sorotipo 4b, resultando em 22 casos de aborto e 63 mortes (JACQUET et al., 1995). No mesmo país, em 1993, outro caso envolvendo carne suína atingiu 33 pessoas (GOULET et al., 1998). Cerca de 100 casos de listeriose humana foram atribuídos ao consumo de cachorro-quente contaminado com *L. monocytogenes* nos Estados Unidos em 1998 (EVANS et al., 2004). No mesmo ano, outro surto de listeriose, também nos Estados Unidos, envolveu 108 pessoas, ocorrendo 14 mortes e quatro casos de aborto devido ao consumo de salsicha (MEAD et al., 2006). Em 2000, na França ocorreu o caso de listeriose associada à língua suína, com 26 casos, resultando em sete óbitos (KANUGANTI et al., 2002).

1.3.1.1. *Listeria monocytogenes* em suínos

A apresentação clínica de listeriose em suínos é rara, podendo ocorrer em suínos no pós-desmame, por meio de sintomas neurológicos, como tremor, incoordenação, paralisia posterior, hiper-excitabilidade e febre. Na necropsia encontram-se meningite e necrose hepática focal (STRAW et al., 2006).

Entretanto, estudos têm descrito a ocorrência de *L. monocytogenes* em suínos saudáveis. Skovgaard & Norrung (1989) encontraram *L. monocytogenes* em fezes e na pele de suínos saudáveis em frequências que variaram de 0 a

47%. O agente também foi detectado em raspados de tonsilas, como no estudo realizado por Kanuganti et al. (2002).

A prevalência de *L. monocytogenes* em conteúdo de ceco de suínos também foi relatada em 29,6% (74/250) de amostras analisadas por Yokoyama et al. (2005). Dentre os isolados, 90,54% foram identificados como sorotipo 1/2c.

A prevalência de suínos portadores de *L. monocytogenes* pode aumentar a chance da contaminação do produto final. Alimentos contaminados podem ter sua origem no matadouro-frigorífico. Trabalhos sugerem que a contaminação de carcaças pelo micro-organismo ocorra a partir do extravasamento do conteúdo intestinal na linha de abate. Porém, outros estudos demonstram que há maior frequência de *L. monocytogenes* em tonsilas do que no intestino, sendo o contato dos tecidos da cabeça com a carcaça a forma de contaminação mais provável (THEVENOT et al., 2006). Além disso, o próprio ambiente do matadouro-frigorífico oferece condições favoráveis para sobrevivência e multiplicação da bactéria. Cepas de *L. monocytogenes* podem ser encontradas em superfícies, mesmo que estas sejam rotineiramente limpas e desinfetadas (CARPENTIER & CERF, 2011), devido sua característica de fácil adesão e formação de biofilme, fazendo com que o micro-organismo sobreviva a ação de desinfetantes (OLIVEIRA et al., 2010). A sua permanência no ambiente da indústria faz com que haja o risco de contaminação cruzada de alimentos durante o processamento, aumentando o risco de ocorrência de surtos (KUNIGK & ALMEIDA, 2001).

Estudos demonstram a relação da prevalência de *L. monocytogenes* em suínos sadios e no produto final. Houve maior frequência de isolamento a partir de tonsilas (7,1%) coletadas no matadouro-frigorífico, do que em raspados de tonsilas coletados na granja (3%), sendo detectado o micro-organismo em 4% dos suabes de carcaças. Não foi isolado o agente do conteúdo fecal antes da evisceração (KANUNGANTI et al., 2002) reforçando a hipótese que a contaminação ocorre durante a remoção da cabeça. Em outro estudo, foi detectado *L. monocytogenes* em 64% de amostras colhidas de vísceras de suínos, tendo sido relacionado esse achado com a contaminação a partir de língua/tonsilas durante a evisceração (AUTIO et al., 2000).

Hellström et al., (2010), concluíram que granjas com maior prevalência de *L. monocytogenes* não tem relação com o número de carcaças contaminadas ao final da linha de abate; porém genótipos comuns de *L. monocytogenes* foram encontrados em suínos provenientes de uma mesma granja, indicando uma origem comum de isolados. Neste mesmo estudo, *L. monocytogenes* foi encontrada em menor frequência em carcaças e cortes da carne suína do que em tonsilas, entretanto genótipos comuns foram identificados entre os isolados, indicando assim a contaminação de carcaças a partir das tonsilas.

Relatos de isolamento de *Listeria* sp. a partir de carcaças de suínos demonstram frequências variáveis de isolamento. Kanuganti et al. (2002) pesquisaram *L. monocytogenes* em 267 carcaças sendo encontrada uma prevalência de 4,1%. No Brasil, Ferronato (2010) colheu 270 suabes de carcaça suína em quatro pontos da linha de abate e encontrou 7,7% positivos para o gênero *Listeria*. Do total de isolados, 3,3% foram identificados como *L. monocytogenes* sendo todos provenientes de suabes colhidos após a etapa de evisceração. Resultado semelhante foi encontrado por Prencipe et al. (2012) com 3% de prevalência. Lindblad et al. (2007) encontraram prevalência de 2% e Hellström et al. (2010), de 1% em carcaças no pré-resfriamento. Prevalência ainda menor foi encontrada por Wesley et al. (2008) em seu estudo realizado em um único matadouro-frigorífico com duas visitas. Na primeira visita houve isolamento em apenas uma carcaça de 179 amostradas (0,1%). Na segunda visita não houve isolamento em nenhuma carcaça, apenas de *L. innocua* em 1,6%, concordando com a literatura que sugere que a prevalência é geralmente baixa (ADESIYUN & KRISHNAN, 1995; AUTIO et al., 2000). Entretanto, o nível de contaminação pode aumentar durante a etapa de refrigeração e de corte (KANUGANTI et al., 2002; THEVENOT et al., 2006).

1.4. Resistência a antimicrobianos

A resistência frente a antimicrobianos em bactérias pode ser definida por critério genético, bioquímico, microbiológico e clínico. Segundo o critério microbiológico, um isolado é considerado resistente quando consegue se multiplicar *in vitro* em presença de concentrações do antimicrobiano maiores do

que o ponto de corte estabelecido para cepas filogeneticamente relacionadas. Do ponto de vista clínico (*in vivo*), uma cepa é considerada resistente quando a terapia antimicrobiana instituída não resulta na sua eliminação. Nesse caso, a resistência ao tratamento inclui outros fatores determinantes como: o sítio da infecção, a dosagem do antimicrobiano, o tempo de tratamento e o estado imunológico do hospedeiro (GUARDABASSI & COURVALIN, 2006; BLAHA, 2011).

A resistência aos antimicrobianos pode ser classificada como natural, ou intrínseca, e adquirida. A resistência natural é baseada em genes presentes no cromossomo, que não são transferíveis. Bactérias como *E. coli* apresentam resistência natural à penicilina G, pois possuem componentes da parede celular que dificultam o acesso da penicilina ao seu sítio de ação. Já a resistência adquirida resulta de mutação do DNA ou pela aquisição de um novo gene (GUARDABASSI & COURVALIN, 2006). Entre os mecanismos envolvidos na resistência adquirida estão: inativação enzimática da molécula do antimicrobiano, pela ação de enzimas bacterianas sobre o princípio ativo do antimicrobiano; alteração do alvo celular deste agente, alterando a estrutura da molécula-alvo do antimicrobiano; e a redução do nível intracelular do antimicrobiano (ALEKSHUN & LEVY, 2007).

A resistência adquirida aos antimicrobianos pode persistir em populações bacterianas mesmo após o abandono de sua administração. Essa persistência ocorre porque muitos genes de resistência estão agrupados nos chamados cassetes gênicos. Esses genes, por sua vez, são co-selecionados pelo uso de qualquer um dos antimicrobianos alvos de resistência dos genes que compõem um determinado cassete (GUARDABASSI & COURVALIN, 2006).

Os genes de resistência frequentemente estão localizados em elementos móveis como plasmídeos e transposons. Os plasmídeo são elementos genéticos que se replicam independentemente do cromossomo e podem ser transferidos entre bactérias pela conjugação. Os transposons são elementos gênicos capazes de trocarem de lugar no cromossoma de uma bactéria, ou migrarem entre cromossoma e plasmídeo. Porém, não são capazes de replicação autônoma nem conseguem ser transferidos entre bactérias se não estiverem inseridos em plasmídeos. Carreiam frequentemente

genes de resistência aos antimicrobianos. Finalmente, os cassetes gênicos são formados frequentemente pela integração de genes nos denominados integrons. Esses são elementos genéticos imóveis que acumulam e expressam genes de resistência, sendo encontrados em plasmídeos ou transposons (SCHWARZ et al., 2006). O uso indiscriminado de antimicrobianos contribui para a seleção de bactérias resistentes aos antimicrobianos (SCHWARZ, et al., 2001). A identificação de perfis comuns de resistência a antimicrobianos em espécies bacterianas isoladas de animais e humanos, tem tornado esse problema uma nova preocupação em relação à saúde pública. Selecionando bactérias resistentes em animais, as mesmas podem ser transferidas para os humanos através dos alimentos ou água, causando uma infecção de difícil controle, ou transferindo genes de resistência dos micro-organismos de origem animal para os que colonizam humanos.

Essa preocupação tem sido fundamentada em estudos, como o de Leverstein et al. (2011) que determinou a distribuição de genes de produção de β -lactamases de espectro ampliado (ESBL) de cepas de *E. coli* isolados de carne de frango no varejo, comparando posteriormente com isolados clínicos de pacientes holandeses. Das amostras de carne de frango, 94% continham cepas produtoras de ESBL, dos quais 39% pertenciam a genótipos de *E. coli* também presentes em pacientes humanos.

O uso de antimicrobianos em veterinária tem por objetivo manter ou melhorar a saúde dos animais. Mesmo em um animal saudável, é comum o uso profilático de antimicrobianos, para diminuir a chance de adquirirem alguma infecção que pode acarretar em perdas na produtividade (PALERMONETO, 2011). Também pode ser empregado como aditivo zootécnico melhorador de desempenho (promotor de crescimento), levando a um aumento da eficiência alimentar (GUARDABASSI et al., 2010). De acordo com a Instrução Normativa nº 26/2009, os antimicrobianos indicados como promotores de crescimento devem apresentar eficácia e segurança comprovada na quantidade e espécies alvo, para as quais o produto é indicado (BRASIL, 2009a). Entretanto, a subdosagem de antimicrobianos, usados como promotores de crescimento aumenta a chance de seleção de cepas resistentes de bactérias, podendo levar ao surgimento de cepas multi-resistentes (GUARDABASSI et al., 2010; SCHWARZ et al., 2010).

A identificação de cepas bacterianas resistentes a antimicrobianos em amostras colhidas de suínos é relatada em inúmeros estudos. Gebreyes et al. (2005) observaram cepas de *Campylobacter* com resistência em amostras de fezes e carcaças suínas, apresentando prevalência maior para tetraciclina (48,6%) e eritromicina (39,7%). Já em amostras de *Salmonella*, a maior frequência de resistência encontrada foi para tetraciclina (80%), seguido de estreptomicina (43,4%) e sulfametoxazol (36%) (GEBREYES et al., 2004). Kich et al. (2011) avaliaram 572 isolados de *Salmonella* sp., provenientes de amostras colhidas em diferentes etapas da cadeia produtiva suína, frente a 15 antimicrobianos. Desse total, apenas 17% dos isolados foram sensíveis a todos os princípios ativos testados, enquanto 43% foram resistentes a mais de três antimicrobianos, sendo considerados multi-resistentes. As maiores frequências de resistência ocorreram frente à tetraciclina (79%), ampicilina (46%), canamicina (41%), gentamicina (39%), estreptomicina (35%) e sulfametoxazol/sulfizoxazole (23%). Wang et al. (2010), observaram 89% de *E. coli* isoladas de fezes suínas multi-resistentes. Tang et al. (2011) realizaram antibiogramas e isolados de cepas *E. coli* extra-intestinal, sendo encontrado 46% de cepas multi-resistentes, sendo a resistência mais prevalente frente a ampicilina, trimetoprima, sulfanamida e tetraciclina.

Um experimento conduzido por Cavaco et al. (2008) forneceu evidências do efeito da administração de cefalosporinas na seleção e persistência de *E. coli* produtores de ESBL na microbiota de suínos. O uso frequente de outras classes de antimicrobianos também pode ter efeito seletivo (DIKMEVIUS, 2011).

Estudos demonstram a ocorrência de resistência em cepas de *E. coli* isoladas de suínos clinicamente saudáveis, assim como originadas de amostras ambientais, como apresentado por Costa et al. (2010), que observaram resistência para gentamicina (71,4%), ampicilina, tetraciclina, amicacina e colistina (42,86% cada) em amostras de fezes de suínos saudáveis, e resistência a gentamicina e tetraciclina (60%) e neomicina (50%) em amostras de *E. coli* do ambiente.

Van den Bogaard et al. (2000) realizaram um estudo em dois países, encontrando prevalência maior em *E. coli* provenientes de amostras fecais de suínos no pré-abate. Na Holanda as maiores frequências de resistência

ocorreram frente à amoxicilina (70-94%), oxitetraciclina (78-98%), trimetoprima (62-96%), cloranfenicol (55-67%) e neomicina (38-67%), já na Suécia essa prevalência foi menor exceto para os antimicrobianos gentamicina e ciprofloxacina.

Silva et al. (2008) determinaram o perfil de resistência a antimicrobianos de amostras de 96 amostras de *E. coli*, isoladas de oito sistemas de armazenamento de dejetos suínos nos Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina, sendo que apenas 6,25% das amostras foram sensíveis a todos os antimicrobianos testados. As demais foram resistentes pelo menos a um antimicrobiano, sendo 37,5% multi-resistentes. Shneider et al. (2009), determinaram o perfil de resistência a antimicrobianos em 205 isolados de *E. coli* obtidos de águas subterrâneas e superficiais em região produtora de suínos no Estado do Rio Grande Sul, encontrando um percentual de 25,96% e 26,73% de multi-resistentes em águas superficiais e subterrâneas, respectivamente. Apenas 19,23% e 13,86% dos isolados de água superficial e subterrânea, respectivamente, foram sensíveis a todos os antimicrobianos testados, sugerindo a disseminação de isolados resistentes no ambiente.

Em trabalho realizado por Wu et al. (2009), foi determinado a prevalência de *E. coli* resistentes a tetraciclina em carcaças suínas, durante a linha de abate (após sangria, escalda, divisão, resfriamento e após o corte), relatando que a prevalência de isolados resistentes a tetraciclina foram reduzidas em 8% até o pré-resfriamento. Para o princípio ativo sulfonamida foi encontrada prevalência de 18% também em carcaças no pré-resfriamento (WU et al., 2010).

Em 2005 foi aprovado pela Comissão do Codex Alimentarius o Código de Práticas para Minimizar e Conter a Resistência Antimicrobiana (CAC/RCP 61-2005), com o objetivo de reduzir os possíveis efeitos que o uso de antimicrobianos usados em animais de produção possa causar na saúde pública. Neste código há orientações para médicos veterinários referente ao uso prudente de antimicrobianos, assim como o controle da venda através da vigilância instituída de acordo com cada país (CODEX ALIMENTARIUS, 2005).

1.5. Programas e monitoramento em carcaças suínas

Tanto a vigilância quanto o monitoramento implica em um processo de recolher dados sobre determinado tema. O monitoramento é um termo mais genérico, referindo-se a coleta de dados para detectar mudanças ou tendências de ocorrência para um determinado evento de interesse. Por sua vez, a vigilância implica em uma coleta sistemática, análise e interpretação de dados relacionados à saúde de uma população, sempre incluindo um conjunto de dados sob medida e um sistema de análise, com limites e intervenções pré-definidos em relação à ocorrência da doença. Tem por objetivo atender às necessidades de informações básicas para avaliar e gerenciar riscos de forma eficaz, levando em conta os custos e benefícios, probabilidade de ocorrência de efeitos adversos sobre a saúde pública, comércio, saúde animal e bem-estar (PFEIFFER, 2010).

O monitoramento de patógenos relacionados com doenças transmitidas por alimento é realizado em diversos países. Na Dinamarca, desde 1995 há o programa de vigilância sorológica de *Salmonella* sp. em rebanhos suínos, programa este, fundamentado em dados que demonstraram forte associação entre sorologia positiva de *Salmonella* e a prevalência da bactéria na cadeia produtiva, como demonstrado em trabalhos de Sørensen et al. (2004).

Na União Europeia, o Regulamento (CE) nº 2073/2005 é relativo aos critérios microbiológicos aplicáveis a alimentos, que tem o princípio de que a inocuidade dos alimentos é garantida através da implantação de programas de Boas Práticas de Fabricação (BPF), Programa de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), Programa de Procedimentos Padrão de Higiene Operacional (PPHO), além dos critérios microbiológicos, que são utilizados como indicadores higiênico-sanitários do processo de abate (EU, 2005). A presença de *Salmonella*, assim como de outros patógenos, consiste em uma das barreiras sanitárias para exportação, por implicar na rejeição do produto pelos países compradores e rescisão de contrato. Além disso, países têm restrições quanto ao uso de determinados antimicrobianos como aditivos zootécnicos melhoradores de desempenho, como é o caso dos estados pertencentes à União Europeia, que proíbem o uso de qualquer princípio ativo como promotor de crescimento. Diversos países realizam o monitoramento de

resistência antimicrobiana e de uso de drogas. Na União Europeia, a Diretriz 2003/99/EC obriga os estados membros, desde 2005, a monitorar a resistência a antimicrobianos nos gêneros *Salmonella* e *Campylobacter*, sendo esses dados examinados pela EFSA, órgão responsável pela elaboração dos relatórios.

No Brasil, os parâmetros sanitários estabelecidos preveem a ausência de *Salmonella* sp. em 25 gramas de carne ou produtos cárneos suínos, conforme a resolução RDC nº 12 da ANVISA (BRASIL, 2001). Em 2007 o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento emitiu a Circular nº 130/CGPE/DIPOA orientando matadouros-frigoríficos exportadores a monitorarem a contaminação de carcaças suínas, obedecendo um plano de amostragem no qual é permitido cinco carcaças positivas para *Salmonella* sp., considerando uma amostragem de 50 carcaças por ciclo. Além disso, a mesma circular estabelece que a contagem média nas carcaças amostradas na etapa de pré-resfriamento deve ser $< 2 \times 10^3$ UFC/cm² para bactérias pertencentes à família *Enterobacteriaceae* e $< 1 \times 10^5$ UFC/cm² para micro-organismos mesófilos (BRASIL, 2007).

Não há o monitoramento previsto em carcaças suínas para *Listeria monocytogenes*. Em 2009, o MAPA emitiu a Instrução Normativa nº 9 referindo-se ao monitoramento de *L. monocytogenes* apenas em produtos prontos para o consumo que apresentam pH $> 4,4$ e atividade de água $> 0,92$ ou concentração de sódio $< 10\%$ (BRASIL, 2009b). Nos casos em que há detecção de produtos positivos a instrução preconiza a avaliação de todas as etapas de elaboração do produto, incluindo a matéria-prima.

Para a questão do uso de antimicrobianos, no Brasil há o Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal (PNCR) que tem com finalidade garantir a inocuidade dos alimentos quanto à presença de resíduos decorrentes do uso de drogas veterinárias, agroquímicos e contaminantes ambientais. O limite de segurança ou limite máximo de resíduo (LMR) tem como base as recomendações feitas pelo Codex Alimentarius – Programa das Nações Unidas Sobre Harmonização de Normas Alimentares, gerenciado pela FAO/WHO (BRASIL, 1999). Nesse programa há necessidade de avaliar continuamente os níveis de resíduos de medicamentos veterinários nos alimentos, com vistas à segurança alimentar. Em 2003 a ANVISA criou

Programa de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos de Origem Animal – PAMVet, que entrou em vigor pela RDC nº 253, sendo iniciado primeiramente com avaliação de leite bovino, incluindo outros alimentos como meta para os próximos anos (BRASIL, 2003a).

Já para o problema de resistência antimicrobiana propriamente dita, desde 2004, está em vigor, o Programa Nacional de Monitoramento da Prevalência e da Resistência Bacteriana em Frango (PREBAF) para os gêneros *Salmonella* e *Enterococcus* isolados de carcaças de frango congeladas comercializadas no Brasil. Após análise dos dados referente à primeira fase do programa, foram incluídos mais dois gêneros (*Listeria* e *Campylobacter*) pela alta prevalência de resistência encontrada nos gêneros já testados (BRASIL, 2004; BRASIL, 2008b).

Para alimentos de origem suína não há monitoramento implantado pelos órgãos oficiais no Brasil. No boletim sanitário exigido pelo MAPA, há apenas a necessidade de informar o uso de drogas terapêuticas e não terapêuticas. A Instrução Normativa nº 65/2006 cita que os produtos medicados, como ração, suplementos, premixes, núcleos ou concentrado, não podem conter promotores com os mesmos princípios ativos de medicamentos terapêuticos a serem incorporados (BRASIL, 2006), para minimizar o impacto de seleção que o uso pode acarretar. Também há uma lista de produtos vetados para uso como promotores de crescimento, entre eles anfenicóis, tetraciclinas, β -lactâmicos (benzilpenicilâmicos e cefalosporinas), quinolonas e sulfonamidas sistêmicas, sendo exclusivo seu uso como produtos antimicrobianos de uso terapêutico (BRASIL, 2009a). Outros princípios ativos têm seu uso proibido sob qualquer forma, sendo esses o cloranfenicol, a furazolidona e a nitrofurazona (BRASIL, 1999).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Delineamento experimental

O estudo foi conduzido em três matadouros-frigoríficos localizados no Estado de Santa Catarina, amostrados por conveniência, de acordo com os seguintes critérios: contar com Serviço de Inspeção Federal (SIF); pertencer a agroindústrias distintas; e concordar em participar do projeto.

Dois ciclos de amostragens (visitas) foram realizados em cada estabelecimento, acompanhando um turno de abate, período em que foram abatidos entre 1.500 e 2.000 suínos. No matadouro-frigorífico A, foram realizadas amostragens nos dias 9 e 30 de setembro de 2010, no matadouro-frigorífico B nos dias 21 de outubro e 4 de novembro de 2010 e no matadouro-frigorífico C nos dias 30 de novembro de 2010 e 11 de março de 2011.

Em cada ciclo, três lotes de abate provenientes de granjas distintas foram amostrados. De cada lote foram colhidas duas sub-amostras: a primeira de fezes de lote, colhida a partir das fezes depositadas no piso da pocilga de espera; a segunda da superfície de 14 carcaças na etapa de pré-resfriamento. O número de carcaças amostradas foi determinada considerando que dados de ocorrência publicados anteriormente (KICH et al., 2006) encontraram 24% de carcaças positivas para *Salmonella* sp. Considerando essa frequência, a amostragem de 14 carcaças em cada lote foi suficiente para detectar ao menos uma carcaça positiva, em um intervalo de confiança de 95% (TOMA et al., 1999).

As amostras colhidas foram analisadas quanto a presença dos gêneros *Salmonella* e *Listeria* e número de coliformes totais na área amostrada das carcaças. Isolados de *Escherichia coli* provenientes de fezes e de carcaça foram avaliados quanto a frequência de resistência à antimicrobianos.

2.2. Colheita de amostras

Para colheita de fezes de lote, três pocilgas de espera que alojavam animais de lotes de abate distintos foram amostradas individualmente em cada

estabelecimento, totalizando 18 amostras de fezes. Para tanto, o operador calçava, em ambos os pés, bota de plástico descartável e propé. A seguir, circulava em várias direções da pocilga de espera, cuidando para colocar em contato o propé com as fezes depositadas no piso. Após a colheita de amostra, os propés foram acondicionados em sacos estéreis com 40 mL água peptonada 0,1%, e a bota plástica foi descartada.

Para a amostragem de superfície de carcaça na etapa de pré-resfriamento, de cada lote incluído no estudo foi colhida amostra da quinta carcaça na nória, sendo as demais treze carcaças amostradas em intervalo de 20 carcaças, totalizando 252 carcaças. A colheita de amostra foi realizada por meio de esponjas individuais estéreis (Nasco®), previamente umedecidas em 10 mL de água peptonada 0,1% estéril. Esponjas foram friccionadas em quatro diferentes áreas de 100 cm² (lombo, papada, barriga e pernil), delimitada por molde estéril, totalizando 400 cm² de área amostrada por carcaça, de acordo com a Circular nº 130/2007/CGPE/DIPOA (BRASIL, 2007). A seguir, as quatro esponjas colhidas foram acondicionadas, em um único saco plástico, constituindo a amostra que representava a carcaça, e transportada em caixa isotérmica ao laboratório do Setor de Medicina Veterinária Preventiva da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

2.3. Análises laboratoriais

As amostras referentes às fezes dos lotes foram homogeneizadas por 60 segundos em *Stomacher* (Logen Scientific). O mesmo procedimento foi realizado para os suabes de carcaças, após a adição de 40 mL de água peptonada tamponada (APT) 0,1% estéril. Imediatamente após serem homogeneizadas, as amostras foram submetidas às análises descritas a seguir.

2.3.1. Pesquisa de *Listeria monocytogenes*

Para pesquisa de *L. monocytogenes*, foi seguida a Instrução Normativa nº 62 (BRASIL, 2003b) com modificação no meio sólido de isolamento. *L.*

monocytogenes ATCC 7644 foi utilizada como controle de todos os procedimentos.

Uma alíquota (1 mL) do homogeneizado de cada amostra foi adicionada em 9 mL de Caldo de Enriquecimento para *Listeria* (UVM, Difco), homogeneizados e incubados por 24 horas em banho-maria à temperatura de 30°C. Após este período, alíquotas de 0,1 mL foram transferidas para 9,9 mL de Caldo Fraser (Difco), incubadas em banho-maria a uma temperatura de 35±1°C, por 24 a 48 horas. Estas duas etapas correspondem ao enriquecimento seletivo, que tem por finalidade inibir os demais micro-organismos e permitir a recuperação das células de *Listeria* sp.

Com auxílio de uma alça de platina, alíquotas foram transferidas para o meio seletivo ágar *Listeria* segundo Ottaviani e Agosti (ALOA, AES), o qual propicia a diferenciação de colônias típicas do gênero *Listeria* e de *L. monocytogenes*. O ágar ALOA possui o componente cromogênico glucosídeo X utilizado para a detecção da enzima β-d-glucosidase, produzida pelo gênero *Listeria*. Colônias típicas assumem coloração azul turquesa em decorrência da ação da enzima sobre o componente cromogênico. A presença de um halo opaco ao redor da colônia típica ocorre pela ação da fosfatidilinositol-fosfolipase C sobre a L-α-fosfatidilinositol presente no meio. Essa enzima, por sua vez, está presente na espécie *L. monocytogenes* (REISSBRODT, 2004).

Após incubação a 36±1°C, por 48 horas, colônias que apresentaram características de *Listeria* sp. e *L. monocytogenes* no ágar ALOA foram transferidas para ágar Triptona de Soja (Oxoid) suplementado com 0,6% de extrato de levedura (Himedia) (TSA-YE) para posterior confirmação. Foram realizados: coloração de Gram, teste da catalase, ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI, Himedia), vermelho de metida (VM, Himedia), Voges-Proskauer (VP, Himedia), motilidade e fermentação dos açúcares manitol, ramanose e xilose. As colônias compatíveis com o perfil bioquímico de *L. monocytogenes* foram submetidas ao teste do CAMP, utilizando as cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 49444) e *Rhodococcus equi* (ATCC 6939). Todos os testes foram conduzidos como descrito por MacFaddin (2000) e Quinn et al. (2011).

2.3.2. Pesquisa de *Salmonella* sp.

O isolamento de *Salmonella* sp. seguiu o protocolo descrito pela ISO 6579 para pesquisa do gênero *Salmonella*. De cada amostra, 25 mL foram adicionados em 225 mL de APT 1% estéril, homogeneizados e incubados a uma temperatura de $36\pm 1^\circ\text{C}$ por 16 a 20 horas (pré-enriquecimento não seletivo). Após, alíquotas de 1 mL e 0,1 mL das amostras foram inoculadas, respectivamente, em 9 mL de Caldo Tetrationato Müller-Kauffmann (Merck) e em 9,9 mL de Caldo Rappaport-Vassiliadis (Merck), sendo incubados em banho-maria por 24 horas a $41\pm 1^\circ\text{C}$ (enriquecimento seletivo).

Alíquotas de cada um dos meios do enriquecimento seletivo foram semeadas em ágar Xilose Lisina Tergitol-4 (XLT4, Oxoid) e ágar Verde Brillante Vermelho de Fenol Lactose Sacarose (BPLS, Oxoid). Ambos os meios foram incubados por 48 horas a temperatura de $36\pm 1^\circ\text{C}$.

Três a cinco colônias típicas de *Salmonella* em ambos os meios sólidos foram selecionadas e semeadas em TSA (Oxoid) para confirmação bioquímica, por meio dos testes ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI, Himedia), produção de gás sulfídrico, indol e motilidade (SIM, Himedia), 2-nitrofenil- β -D-galactopiraminosídeo (ONPG) e caldo uréia (Oxoid).

Isolados com perfil bioquímico compatíveis com *Salmonella* sp. foram confirmados pela prova da aglutinação com soro polivalente somático (Probac, São Paulo) e enviados para sorotipificação na Fundação Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ).

2.3.3. Quantificação de coliformes totais

As amostras homogeneizadas, considerada como 10^0 , foram submetidas a diluições seriadas até 10^{-5} em solução salina 0,9% estéril. Alíquotas de 1 mL de cada diluição foram pipetadas na superfície de placas de Petri estéreis, em duplicata. Após, foram adicionados cerca de 15 mL de meio ágar Vermelho Violeta Bile Lactose (VRBA, Oxoid) previamente fundido. O inóculo e meio de cultura foram homogeneizados cuidadosamente por meio de movimentos circulares da placa. Após a solidificação do meio, foi adicionada uma sobrecamada de cerca de 5 mL de meio, conforme instruções do fabricante.

A contagem das colônias típicas (rosa intensa com precipitado da mesma cor ao redor da colônia) foi realizada após 48 horas de incubação a $36\pm 1^{\circ}\text{C}$. A média de colônias típicas foi multiplicada pelo inverso da diluição de contagem e dividida por 40, para obter o número de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) por mL de caldo. Para a representação do resultado em área de carcaça, considerou-se que os 40 mL de amostra homogeneizada representavam a área total amostrada de 400 cm^2 . Sendo assim, os valores obtidos em UFC/mL foram divididos por 10 para obter o resultado em UFC/ cm^2 (SILVA et al., 2010).

2.3.4. Formação do grupo de isolados de *Escherichia coli*

O grupo de isolados de *E. coli* submetidos ao teste de sensibilidade a antimicrobianos foi formado a partir de colônias típicas de enterobactérias originadas das amostras de fezes de lotes amostradas e colônias típicas isoladas de suabes de carcaça de cada visita efetuada aos matadouros-frigoríficos, totalizando 355 isolados referentes as fezes e 319 isolados referentes as carcaças.

Esse número de isolados foi estabelecido para permitir a comparação da proporção de resistência de *E. coli* no pré-abate e no pós-abate, considerando que dados publicados indicam que 80% de isolados de *E. coli* provenientes de suínos apresentam resistência contra ao menos um antimicrobiano (SCHMIDT et al., 2002).

Colônias típicas de enterobactérias no meio VRBA foram repicadas, individualmente, em Caldo Infusão de Cérebro e Coração (BHI, Oxoid) e incubadas por 24 horas a temperatura de $36\pm 1^{\circ}\text{C}$. Em seguida, alíquotas desse caldo foram transferidas para o ágar MacConkey (Oxoid), e incubadas a $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 horas. Colônias suspeitas de *E. coli* (rosa intenso) foram transferidas para o ágar TSA (Oxoid) e submetidos aos testes bioquímicos para confirmação, conforme MacFaddin (2000). Apenas isolados confirmados foram incluídos no grupo a ser testado.

2.3.5. Teste de sensibilidade a antimicrobianos em isolados de *Escherichia coli*

O grupo de isolados de *E. coli* obtidos de fezes e de carcaças em cada ciclo de amostragem realizada foi testado quanto a resistência frente a antimicrobianos, pelo teste de difusão em ágar Muller–Hinton (Oxoid), realizado e interpretado de acordo com as normas dos documentos M2-A8 (CLSI/NCCLS, 2003), M100-S15 (CLSI/NCCLS, 2005) e M31-A3 (CLSI, 2008). Oito antimicrobianos foram escolhidos, representando as classes de princípios ativos utilizados na suinocultura, e disponíveis em discos impregnados comerciais (Oxoid): ampicilina (10 µg); ceftazidima (30 µg); cefotaxima (30 µg); gentamicina (10 µg); florfenicol (30 µg); ácido nalidíxico (30 µg); tetraciclina (30 µg); sulfonamidas (30 µg).

Para controle do teste foi utilizada a cepa *E. coli* ATCC 25922. Os isolados foram considerados multi-resistentes quando apresentaram fenótipo de resistência contra pelo menos três antimicrobianos de classes distintas, como recomendado por Schwarz et al. (2010).

2.4. Análise estatística

Os resultados de isolamento de *Salmonella* sp. e *Listeria monocytogenes* foram analisados quanto a frequência encontrada em cada tipo de amostra colhida, ou seja, nas fezes e nas carcaças no pré-resfriamento, em cada matadouro-frigorífico visitado, através do teste não-paramétrico qui-quadrado (χ^2) do programa estatístico SPSS versão 1.8, com nível de confiança de 95%.

As frequências de resistência a antimicrobianos de isolados de *E. coli* provenientes de fezes e carcaças foram comparados pelo mesmo teste. As comparações foram feitas entre os matadouros-frigoríficos e entre a resistência encontrada em isolados das duas origens no próprio estabelecimento. As cepas que apresentavam resistência a três classes distintas, ou seja, cepas multi-resistentes foram relacionadas entre os isolados de fezes e carcaça pelo mesmo método.

3. RESULTADO

Das 18 amostras de fezes colhidas nas pocilgas de espera de três matadouros-frigoríficos de Santa Catarina, em 83,33% (15/18) houve isolamento de *Salmonella* sp. Todas as três amostras negativas foram provenientes do primeiro ciclo de amostragem conduzido no matadouro-frigorífico A. O gênero *Listeria* foi isolado em 66,66% (12/18) das amostras referentes às fezes, sendo *L. innocua* a espécie mais frequente. Ao contrário, *L. monocytogenes* foi encontrada em apenas uma amostra (5,5%) colhida no matadouro-frigorífico B (Tabela 1).

Tabela 1 – Frequência de isolamento de espécies do gênero *Listeria* de amostras de fezes colhidas em pocilgas de espera de três matadouros-frigoríficos de Santa Catarina, 2010-2011.

	Matadouro-frigorífico		
	A (n=6)	B (n=6)	C (n=6)
<i>Listeria innocua</i>	3	3	-
<i>Listeria grayi</i>	3	1	-
<i>Listeria monocytogenes</i>	-	1	-
<i>Listeria welshimeri</i>	-	-	3
Negativo	2	1	3

Do total de 252 carcaças, amostradas na etapa de pré-resfriamento, 27,38% (69/252) foram positivas para *Salmonella* sp. e 19,84% (50/252) para *L. monocytogenes*. Comparando as frequências de carcaças positivas nos matadouros-frigoríficos amostrados, observou-se que o estabelecimento B apresentou uma frequência significativamente maior ($P < 0,001$) de carcaças com isolamento de *L. monocytogenes*, porém apresentou tendência ($P = 0,053$) de menor detecção de *Salmonella* sp. (19,05%) em relação aos demais matadouros. Por outro lado, em A e C houve uma frequência significativamente maior ($P < 0,001$) de isolamento de *Salmonella* sp. em relação a *L. monocytogenes* a partir de carcaças. Em 8 (3,17%) carcaças houve o isolamento concomitante de *Salmonella* sp. e *L. monocytogenes*. Dessas carcaças, sete foram originadas do matadouro-frigorífico B, enquanto no estabelecimento C foi encontrada uma carcaça com ambos os patógenos.

Tabela 2 – Frequência de isolamento de *Salmonella* sp. e *Listeria monocytogenes* em carcaças de três matadouros-frigoríficos (A, B, C) de Santa Catarina, 2010-2011.

Matadouro-frigorífico	Positivos/Total (%)	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Salmonella</i> sp.
A	1/84 (1,20%)	23/84 (27,39%)
B	46/84 (54,77%)	16/84 (19,05%)
C	3/84 (3,58%)	30/84 (35,71%)
Total	50/252 (19,84%)	69/252 (27,38%)

Os isolados de *Salmonella* obtidos de fezes e carcaças foram classificados em dez sorovares distintos. Nas fezes colhidas nas pocilgas de espera predominou *S. Typhimurium*, enquanto em carcaças *S. Derby* foi a mais identificada (Tabela 3). Em todos os matadouros-frigoríficos houve variabilidade nos sorovares identificados, porém observou-se em todos os estabelecimentos a presença de sorovares comuns em fezes e carcaças.

Tabela 3 – Frequência de isolamento de *Salmonella* sp. e sorovares encontrados em fezes e carcaças suínas de três matadouros-frigoríficos (A, B, C) de Santa Catarina, 2010-2011.

Amostragem	Fezes		Carcaças	
	Positivo	Sorovar (n)	Positivo	Sorovar (n)
A1	0/3	-	1/42	Panama (1)
A2	3/3	Infantis (3); Give (2); Derby (1)	22/42	Derby (23); Infantis (4); Typhimurium (3); Mbandaka (1); <i>Salmonella</i> sp. (1)
B1	3/3	Typhimurium (2); Give (1); Lexigton (1)	7/42	Typhimurium (7); <i>Salmonella</i> sp. (1)
B2	3/3	Typhimurium (2); Cerro (1); Corvallis (1); Panama (1)	9/42	Typhimurium (6); Infantis (2); Derby (1); <i>Salmonella</i> sp. (1)
C1	3/3	Typhimurium (1); <i>Salmonella</i> sp. (2)	2/42	Typhimurium (1); Ohio (1)
C2	3/3	<i>Salmonella</i> sp. (3)	28/42	<i>Salmonella</i> sp. (28)

A contagem média de coliformes totais encontrada em carcaças variou de $5,27 \times 10^1$ a $9,73 \times 10^3$ (Tabela 4).

Tabela 4 – Número médio de coliformes totais em carcaças amostradas na etapa de pré-resfriamento em três matadouros-frigoríficos (A, B, C) de Santa Catarina, 2010-2011.

Matadouro-frigorífico (Amostragem)	Mínima	Máxima	Média	
	UFC.cm ⁻²	UFC.cm ⁻²	UFC.cm ⁻²	log.cm ⁻²
A(1)	2,25 x 10 ⁰	3,43 x 10 ²	5,74 x 10 ¹	1,75
A(2)	1,25x 10 ⁰	3,19 x 10 ²	5,27 x 10 ¹	1,71
B(1)	1,25 x 10 ²	3,66x 10 ³	1,14 x 10 ³	3,05
B(2)	5 x 10 ²	3,95 x 10 ⁴	9,73 x 10 ³	3,99
C(1)	2 x 10 ²	3,75 x 10 ⁴	4,29 x 10 ³	3,63
C(2)	1,25 x 10 ²	8,25 x 10 ⁴	9,37 x 10 ³	3,97

Em relação ao teste de resistência frente a antimicrobianos, realizado em isolados de *E. coli* oriundos de fezes e carcaças, observou-se maior frequência de resistência em isolados de fezes do que nos originados de carcaças, sendo a diferença estatisticamente significativa para tetraciclina (P<0,001), ampicilina (P<0,001) e sulfonamida (P=0,022) (Tabela 5).

Tabela 5 – Frequência de resistência a antimicrobianos em isolados de *Escherichia coli* provenientes de fezes e carcaças em três matadouros-frigoríficos (A, B, C) de Santa Catarina, 2010-2011.

	Fezes n = 355		Carcaça n = 319		Total = 674		P valor
	Resistente	%	Resistente	%	Resistente	%	
Tetraciclina	326	91,83	254	79,62	580	86,05	<0,001
Ampicilina	287	89,84	205	64,26	492	73,00	<0,001
Sulfonamida	265	74,64	207	64,89	472	70,02	0,022
Florfenicol	234	65,91	207	64,89	441	65,43	0,780
Ácido nalidíxico	213	60,00	184	57,68	397	58,90	0,457
Gentamicina	33	9,29	21	6,58	54	8,01	0,431
Ceftazidima	0	0	2	0,62	2	0,29	0,135
Cefotaxima	0	0	0	0	0	0	-

As frequências de resistência frente aos antimicrobianos variaram de acordo com o matadouro-frigorífico amostrado. No primeiro estabelecimento (A) observou-se frequência de resistência maior para a tetraciclina tanto nas fezes quanto em carcaças, seguida de ampicilina e sulfonamida nas fezes e florfenicol e sulfonamida nas carcaças (Tabela 6). Os isolados originados de carcaças apresentaram maior frequência de resistentes que os de fezes frente a todos os antimicrobianos, exceto para ampicilina. Entretanto, houve um número maior de isolados nas fezes que apresentaram resultados classificados

como intermediários. Houve diferença estatisticamente significativa ($P < 0,05$) entre os isolados de fezes e carcaças para os antimicrobianos ácido nalidíxico e gentamicina.

Tabela 6 – Resultados de antibiogramas de isolados de *Escherichia coli* provenientes de fezes e carcaças suínas no matadouro-frigorífico A.

	FEZES (n = 122)			CARÇAÇA (n = 102)			P valor
	Resistente	Intermediário	Sensível	Resistente	Intermediário	Sensível	
	%	%	%	%	%	%	
Ácido nalidíxico	54,10	4,92	40,98	75,49	0,98	23,53	0,003
Ampicilina	82,79	3,28	13,93	71,57	1,96	26,47	0,058
Cefotaxima	0	0,82	99,18	0	0	100	0,359
Ceftazidima	0	0	100	0	0	100	-
Florfenicol	43,44	15,57	40,99	87,26	11,76	0,98	0,252
Gentamicina	0,82	1,64	97,54	5,88	2,94	91,18	<0,001
Sulfonamida	72,95	0,82	26,23	81,37	0	18,63	0,074
Tetraciclina	89,34	0	10,66	93,14	0	6,86	0,321

O matadouro-frigorífico B apresentou uma frequência de resistência significativamente mais elevada em isolados de fezes quando comparada aos de carcaças frente a todos os antimicrobianos, exceto para os antimicrobianos cefotaxima e ceftazidima (Tabela 7). Elevado número de isolados, principalmente de carcaças, apresentaram resultado intermediário no antibiograma, principalmente frente ao florfenicol. Tetraciclina apresentou o maior número de isolados resistentes em ambas os tipos de amostra, seguida de florfenicol nas fezes e ampicilina nas carcaças.

Tabela 7 - Resultados de antibiogramas de isolados de *Escherichia coli* provenientes de fezes e carcaças suínas, no matadouro-frigorífico B.

	FEZES (n = 122)			CARÇAÇA (n = 122)			P valor
	Resistente	Intermediário	Sensível	Resistente	Intermediário	Sensível	
	%	%	%	%	%	%	
Ácido nalidíxico	67,21	4,10	28,69	48,36	4,10	47,54	0,009
Ampicilina	86,89	2,46	10,65	65,57	10,66	23,77	<0,001
Cefotaxima	0	0,82	99,18	0	1,64	98,36	0,561
Ceftazidima	0	0	100	1,64	0	98,36	0,156
Florfenicol	91,80	7,38	0,82	60,65	29,51	9,84	<0,001
Gentamicina	24,59	9,84	65,57	4,92	9,01	86,07	<0,001
Sulfonamida	77,87	0	22,13	50,82	0,82	48,36	<0,001
Tetraciclina	91,80	0	8,20	70,49	0,82	28,69	<0,001

Com exceção frente à gentamicina, o matadouro-frigorífico C também apresentou frequência maior de isolados resistentes provenientes de fezes do que de carcaças (Tabela 8). Porém, houve apenas diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) em relação à ampicilina e tetraciclina, e uma tendência de diferença em relação à sulfonamida. Novamente o florfenicol em ambas as categorias obteve um percentual alto de isolados intermediários no antibiograma.

Tabela 8 - Resultados de antibiogramas de isolados de *Escherichia coli* provenientes de fezes e carcaças suínas, no matadouro-frigorífico C.

	FEZES (n = 111)			CARÇAÇA (n = 95)			P valor
	Resistente %	Intermediário %	Sensível %	Resistente %	Intermediário %	Sensível %	
Ácido nalidíxico	58,56	5,40	36,04	50,53	5,26	44,21	0,481
Ampicilina	72,07	3,60	24,33	54,74	11,58	33,68	0,015
Cefotaxima	0	0	100	0	1,05	98,95	0,279
Ceftazidima	0	0	100	0	0	100	-
Florfenicol	62,16	27,03	10,81	46,32	37,89	15,79	0,231
Gentamicina	1,80	3,60	94,60	9,47	3,16	87,37	0,074
Sulfonamida	72,97	0	27,03	65,26	0	34,74	0,051
Tetraciclina	94,59	0	5,41	76,84	0	23,16	<0,001

Entre os matadouros-frigoríficos, o número de isolados resistentes provenientes de fezes foi estatisticamente ($P < 0,05$) diferente frente ao florfenicol e gentamicina. Já entre isolados de carcaças, a frequência de resistentes diferiu significativamente ($P < 0,05$) frente ao ácido nalidíxico, sulfonamida e tetraciclina.

No presente estudo, foram encontradas cepas multi-resistentes, ou seja, resistentes a no mínimo três antimicrobianos de classes distintas (SCHWARZ et al., 2010). Considerando os três estabelecimentos amostrados, os isolados provenientes das fezes apresentaram um número elevado de multi-resistentes quando comparados com isolados oriundos de carcaças no pré-resfriamento ($P < 0,001$) (Figura 2).

Com exceção do matadouro-frigorífico A, todos os demais apresentaram diferença estatisticamente significativa ($P < 0,05$) entre isolados de fezes com os isolados de carcaças.

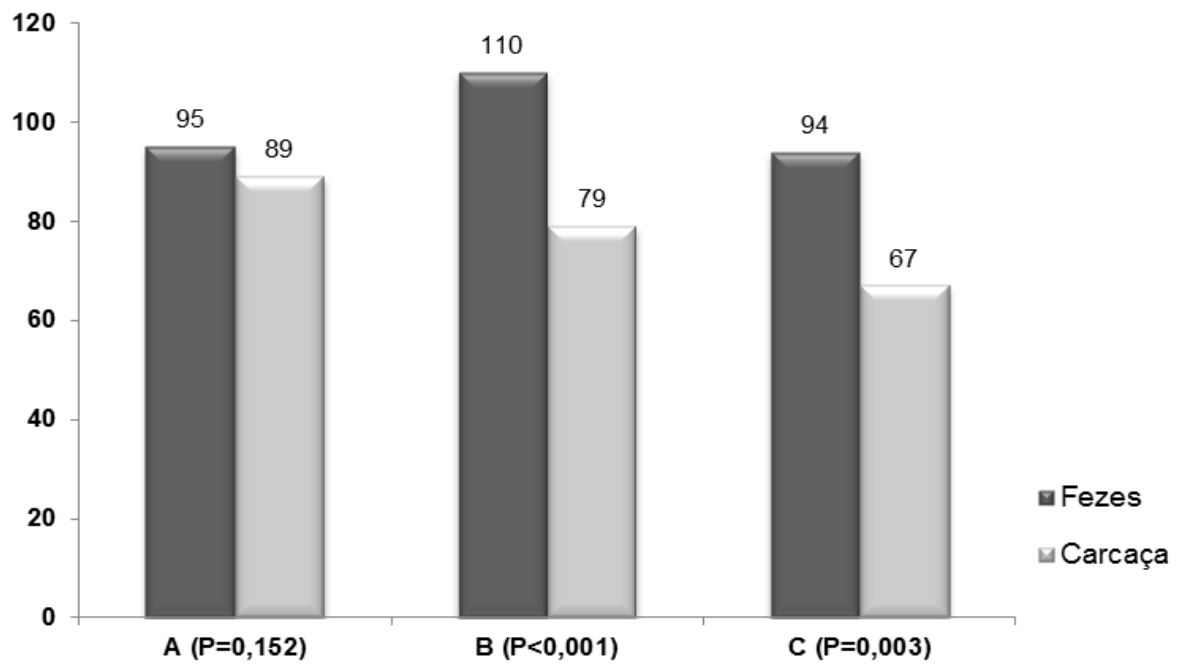


Figura 2 - Frequência de isolados multi-resistentes em fezes e carcaças na etapa do pré-resfriamento, em três matadouros-frigoríficos (A, B, C) de Santa Catarina, 2010-2011.

4. DISCUSSÃO

No presente estudo demonstrou-se a ocorrência de patógenos causadores de DTA e de isolados de *E. coli* resistentes frente a antimicrobianos tanto no pré-abate quanto na etapa final do processamento de carcaças suínas em três matadouros-frigoríficos do Estado de Santa Catarina.

O isolamento do gênero *Salmonella* a partir de fezes de suínos alojados em pocilgas de espera colhidas imediatamente antes do abate foi elevado, alcançando frequência próxima a 100%. Os resultados observados assemelham-se aos obtidos em outros estudos que amostraram o ambiente de pocilgas de espera e reportaram prevalências de 90 a 100% de positividade (BOTTELDOORN et al., 2003; SEIXAS et al., 2009; KICH et al., 2011; DE BUSSER et al., 2011). O suíno é considerado fonte primária de introdução de *Salmonella* no matadouro-frigorífico, justificando assim a importância de controlar o número de animais portadores (BERENDS et al., 1997; EFSA, 2008; TEUNIS et al., 2010). A infecção pode ocorrer durante o transporte e na própria pocilga de espera, pois a ingestão de *Salmonella* pode resultar na invasão do trato gastrointestinal em duas horas, facilitando assim a disseminação da bactéria por contaminação cruzada entre os animais (BERENDS et al., 1996; HURD et al., 2001; SWANENBURG et al., 2001; ROSTAGNO et al., 2009).

O nível elevado de baias de espera contaminadas, por sua vez, tende a elevar o número de suínos portadores ao abate (BOTTELDOORN et al., 2003; ROSTAGNO et al., 2009; TEUNIS et al., 2010; DE BUSSER et al., 2011). Nesse sentido, Letellier et al. (2009) demonstraram que a prevalência de carcaças contaminadas com *Salmonella* aumentava em 23,6% nos lotes já positivos no pré-abate. Analisando as frequências de isolamento de *Salmonella* por ciclo de amostragem no presente estudo, observa-se que o percentual variou de 0 a 100% nas fezes, concordando com a literatura que sugere que a positividade do lote influencia o número de carcaças positivas, pois a visita que não apresentou isolamento de *Salmonella* a partir de fezes foi a que apresentou a menor frequência de carcaças positivas no pré-resfriamento (2,4%).

Além da origem de contaminação de carcaças associada à transmissão entre animais nas pocilgas de espera pré-abate, essa pode ocorrer, também, por contaminação cruzada a partir de equipamentos, e das próprias carcaças (BERENDS et al., 1997; DE BUSSEER et al., 2011). A literatura indica alguns pontos do abate que aumentam a contaminação de carcaças. Estudos sugerem que a escaldagem seja um risco de contaminação cruzada entre as carcaças, quando a temperatura da água não for mantida acima de 60°C (BOLTON et al., 2002). A depilação é considerada uma etapa que possibilita contaminação da carcaça, pois além de poder disseminar bactérias na pele do próprio animal, pode ser uma fonte de transferência cruzada entre carcaças (BORCH et al., 1996; BERENDS et al., 1997; EFSA, 2010). Apesar de uma flambagem eficaz ter papel significativo na redução da carga bacteriana presente nas carcaças (BORCH et al., 1996; EFSA, 2010), no polimento, etapa seguinte, pode ocorrer a recontaminação, visto que o equipamento é de difícil higienização (BORCH et al., 1996). Entretanto a evisceração, já na área limpa do matadouro-frigorífico, é considerada a etapa com maior risco de contaminação, através do extravasamento de fezes (BOTTELDOORN et al., 2003; EFSA, 2010; DE BUSSEER et al., 2011). Além disso, na área limpa não existe uma etapa que reduza a contaminação das carcaças, possibilitando que as mesmas cheguem positivas na etapa de pré-resfriamento.

No presente trabalho, as carcaças não foram acompanhadas durante o processamento na linha de abate, entretanto é possível supor que os pontos referidos como críticos na literatura tenham contribuído para o número de carcaças positivas verificado na etapa de pré-resfriamento. Entre matadouros-frigoríficos as frequências de carcaças positivas apresentaram grande variação, ficando entre 19,05% e 35,71%, próxima à prevalência de 24% reportada por Kich et al. (2011) em um matadouro-frigorífico também localizados em Santa Catarina. Outros estudos relatam prevalências maiores, como o conduzido na Bélgica (37%) ou no Canadá (43,4% a 67%) (BOTTELDOORN et al. 2003; LETELLIER et al., 2009). Porém, Van Hoek et al. (2012) relataram prevalência de 35,9% de carcaças positivas no pré-resfriamento, também compatível com os resultados encontrados no presente trabalho. No mesmo estudo, 6% das carcaças foram positivas apenas na amostragem realizada ao final da linha de

abate, reforçando a hipótese de contaminação cruzada durante etapas anteriores do processo (BERENDS et al., 1997; BOTTELDOORN et al., 2003).

Em estudo realizado no Sul do Brasil, por Silva (2011), apenas 14,7% do total de 109 carcaças amostradas na etapa do pré-resfriamento foram positivas para *Salmonella*, porém com frequência muito variável (0 a 69,2%) entre matadouros-frigoríficos visitados. Dados semelhantes foram encontrados na Itália, por Piras et al. (2011) e em Portugal por Vieira-Pinto et al. (2005), com 14,1% e 12,9% de carcaças positivas, respectivamente. Prevalência ainda menor foi relatada por Bouvet et al. (2003), com 10,5% de carcaças positivas, havendo também diferença estatisticamente significativa entre os matadouros-frigoríficos amostrados ($p < 0,001$). Na Alemanha, a prevalência relatada foi de 10,3% (KÄSBOHRER et al., 2000), e na Dinamarca encontrou-se 9,6% (SØRENSEN et al., 2004) ou 1,4% (SØRENSEN et al., 2006), em dois estudos distintos. Todos esses dados reforçam a hipótese que a prevalência de *Salmonella* em carcaças é altamente variável entre regiões, abatedouros e, até entre dias de abate num mesmo estabelecimento, o que reflete a prevalência de portadores dos lotes entregues e a forma como o processamento das carcaças foi conduzido.

Cada matadouro-frigorífico demonstrou um perfil de sorovares distinto, entretanto *S. Derby* foi o mais encontrado, seguido de *S. Typhimurium*, considerando todas as amostras analisadas. Esse resultado corresponde ao reportado em estudos similares (BOUVET et al., 2003; DE BUSSE, 2011; PIRAS et al., 2011; SILVA, 2011), e com relatos da União Europeia, onde os sorovares *Typhimurium* e *Derby* foram os mais encontrados em suínos (EFSA, 2009). Ao lado dos sorovares mais frequentemente relatados, foi possível identificar outros de ocorrência rara – Ohio, Give, Lexington e Corvallis – demonstrando a grande variabilidade de origem dos isolados. Em outro estudo realizado em Santa Catarina, também foram identificados sorovares menos frequentes, como Senftenberg (5,4%), Houtenae (0,7%) e Montevideo (0,5%) ao lado dos mais prevalentes *Typhimurium* (50,7%) e *Panama* (28,5%) (KICH et al., 2011). Por outro lado, apenas os sorovares *Typhimurium* e *Derby* foram comuns entre fezes e carcaças no presente estudo. Swanenburg et al. (2001) reportaram os sorovares *Panama* e *Typhimurium* como os mais encontrados nas pocilgas de espera e nas carcaças. Em Portugal, em carcaças positivas

para o gênero *Salmonella*, 69,2% apresentaram o mesmo sorotipo identificado no suíno antes do abate, enfatizando a importância de suínos como fonte de introdução de *Salmonella* durante o abate (VIEIRA-PINTO et al., 2005).

Uma situação completamente distinta foi verificada em relação ao gênero *Listeria*, pois, apesar de 66,6% (12/18) das fezes amostradas serem positivas, apenas em uma amostra houve identificação da espécie patogênica *L. monocytogenes*. *Listeria innocua* foi a espécie mais frequente, seguida de *L. grayi* e *L. welshimeri*, resultado semelhante ao encontrado por Belceil et al. (2003), em que 74% de pocilgas foram positivas para *Listeria* spp., sendo *L. innocua* a mais prevalente.

O isolamento de qualquer espécie de *Listeria* pode refletir a presença de *L. monocytogenes* (CAPITA et al., 2001; BEICEIL et al., 2003), uma vez que as amostras geralmente albergam mais de uma espécie do gênero e o isolamento de *L. monocytogenes* poder ser subestimado quando há elevado número de isolados de *L. innocua*, pois pode haver interferência com o crescimento da primeira na etapa de isolamento (CORNU et al., 2002; BEICEIL et al., 2003).

Entretanto, estudos sugerem que a contaminação pelo gênero *Listeria* em carcaças tem menor relação com a presença da bactéria nas fezes, quando comparada a outros agentes estudados. Wesley et al. (2008) demonstraram que *L. monocytogenes* estava mais presente em tonsilas do que em fezes de suínos, Prencipe et al. (2012) observaram níveis baixos de suínos portadores de *L. monocytogenes*, concordando com Kanuganti et al. (2002), sendo mais frequente seu isolamento em tonsilas do que em fezes. Estudos indicam que apesar da contaminação de carcaças por *L. monocytogenes* poder ocorrer por extravasamento de conteúdo intestinal durante a evisceração, a retirada da cabeça é a operação de maior risco (AUTIO et al., 2000; THEVENOT et al., 2006). Hellström et al. (2010) demonstraram que pode ocorrer contaminação direta de carcaças durante a retirada de tonsilas e que o número de carcaças contaminadas não tinha relação com a prevalência de *L. monocytogenes* nas granjas de origem dos animais.

Segundo Thevenot et al. (2006), um pequeno número de *L. monocytogenes* introduzidas na linha de abate já é suficiente para que se estabeleçam e multipliquem no ambiente. Além disso, o gênero *Listeria*, por possuir capacidade de formação de biofilme, pode sobreviver e multiplicar-se

em temperaturas baixas, além de resistir à ação de desinfetante, tornando o ambiente do matadouro-frigorífico uma fonte de contaminação cruzada das carcaças durante o processamento (AUTIO et al., 2000; THEVENOT et al., 2006; CARPENTIER & CERF, 2011). Prencipe et al., (2012) observaram a contaminação cruzada de carcaças, tendo sido o ambiente do abate considerado a principal fonte de contaminação do produto final por *L. monocytogenes*, além de observarem a persistência de pulsotipos recorrentes no ambiente ao longo do tempo.

No presente trabalho encontrou-se baixa frequência de *L. monocytogenes* em carcaças nos matadouros frigoríficos A e C similares a outros estudos, que relataram prevalências que variaram de 0,6% a 4,1% em carcaças no pré-resfriamento (KANUGANTI et al., 2002; LINDBLAD et al., 2007; WESLEY et al., 2008; HELLSTRÖM et al., 2010; PRENCIPE et al., 2012). Por outro lado, no matadouro-frigorífico B houve uma frequência (54,77%) significativamente maior ($P < 0,001$) de carcaças com isolamento de *L. monocytogenes*. Este resultado sugere que o ambiente desse estabelecimento estava contaminado e que havia falhas nos processos de abate, propiciando que um elevado número de carcaças contaminadas chegasse até a câmara fria. Considerando o caráter psicrófilo de *L. monocytogenes*, é possível supor que tal achado tenha exercido influência sobre a ocorrência de produtos contaminados, elaborados a partir dessas carcaças após resfriamento.

Paralelamente às pesquisas de *Salmonella* e *Listeria*, foi realizado o isolamento e enumeração de coliformes totais, com o intuito de formar o grupo de *E. coli* testadas quanto à resistência a antimicrobianos. As contagens de coliformes totais encontradas no presente estudo variaram de $5,27 \times 10^1$ a $9,73 \times 10^3$, ou seja, 1,71 a 3,99 log.cm². No Brasil não há parâmetros para média de coliformes totais em carcaças suínas, portanto não é possível avaliar o padrão higiênico dos matadouros-frigoríficos amostrados. Em 2007 o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento emitiu a Circular nº 130/CGPE/DIPOA orientando matadouros-frigoríficos exportadores a monitorarem a contaminação de carcaças suínas, obedecendo um plano de amostragem no qual é estabelecido que a contagem média nas carcaças amostradas na etapa de pré-resfriamento deve ser $< 2 \times 10^3$ UFC/cm² para bactérias pertencentes à família *Enterobacteriaceae* (BRASIL, 2007). A família *Enterobacteriaceae* inclui

bactérias Gram negativas, oxidase negativa fermentadoras de glicose, ao passo que os coliformes totais é um sub-grupo que inclui apenas as bactérias capazes de fermentar a lactose (SILVA et al., 2010). Adotando a contagem de *Enterobacteriaceae* máxima preconizada pela União Europeia (<2,0 log UFC/cm²) como parâmetro, Blagojevic et al. (2011), classificaram dois matadouros-frigoríficos europeus como aceitáveis. Resultado similar foi encontrado por Delhalle et al. (2008), onde a média de contagem foi *E. coli* ficou entre 0,43 a 1,11 log UFC/cm², considerado aceitável no Regulamento (CE) nº 2073/2005, que adota *E. coli* como um indicador de contaminação fecal durante o processo (EU, 2005). Ghafir et al. (2008) realizaram estudo com o objetivo de avaliar diferentes indicadores bacterianos para avaliar a qualidade sanitária de carcaças suínas, incluindo monitoramento das contagens de *E. coli* e *Enterobacteriaceae*. Médias de 1,20 a 2,32 log UFC/cm² de *E. coli* foram encontradas, e essa contagem foi significativamente maior em carcaças positivas para *Salmonella*, o que levou os autores a considerá-la um bom indicador para presença de agentes zoonóticos entéricos em carcaça suína. Já Ruby & Ingham (2009) sugeriram o uso de *Enterobacteriaceae* como indicador para presença de *Salmonella*. Prendergast et al. (2008) encontraram média mais elevadas de *Enterobacteriaceae*, variando de 1,72 a 5,33 log UFC/cm², entretanto, não foi possível correlacionar o aumento dessa média com o número de carcaças positivas para o *Salmonella*.

Isolados de *E. coli* provenientes das amostras de fezes colhidas nas pocilgas de espera e de carcaças foram testadas quanto a resistência à antimicrobianos neste estudo. Existem diversos relatos na literatura sobre elevados níveis de resistência antimicrobiana em bactérias provenientes de animais de produção (RIBEIRO et al., 2006; ALMEIDA et al., 2007; BANDEIRA et al., 2007; AARESTRUP et al., 2008; MENIN et al., 2008; COSTA et al., 2010; WANG et al., 2010; ANJUM et al., 2011; KICH et al., 2011; TANG et al., 2011; OBENG et al., 2012). Além disso, bactérias originadas de diferentes espécies animais podem apresentar perfil de resistência antimicrobiana e genótipos semelhantes a isolados de humanos (WEDEL et al., 2005; MICHAEL et al., 2006), indicando que animais de produção podem ser reservatório de bactérias multi-resistentes. Conforme relatório da FAO/WHO/OIE (2008), a disseminação da resistência antimicrobiana é um problema de saúde pública global e

patógenos transmitidos por alimentos e comensais potencialmente resistentes a cefalosporinas, quinolonas e aminoglicosídeos devem ser especialmente monitorados. Nesse sentido, o monitoramento de resistência antimicrobiana realizada em bactérias comensais em animais, como o caso da *E. coli*, é considerado um bom indicador do padrão de resistência dentro de uma população (ANDRAUD et al., 2011).

Entre os isolados de *E. coli* testados no presente estudo, elevada frequência de resistentes à tetraciclina, ampicilina, sulfonamida, florfenicol e ácido nalidíxico foi observada, o que pode indicar pressão de seleção exercida pelo uso indiscriminado de antimicrobianos e pela co-seleção de resistências mediadas por genes localizados em cassetes gênicos (WANG et al., 2010). Por meio da co-seleção gênica, é possível observar persistência da resistência a determinados antimicrobianos em populações bacterianas, mesmo após o abandono de sua administração, pois genes localizados em cassetes gênicos são co-selecionados pelo uso de qualquer um dos antimicrobianos alvos de resistência dos genes que compõem um determinado cassete. Frequentemente, os cassetes gênicos são formados pela integração de genes nos denominados integrons, muitas vezes localizados em elementos móveis, e que acumulam e expressam genes de resistência (SCHWARZ et al., 2006; TANG et al., 2011).

O marcador do integron classe 1 das enterobactérias é o gene *su1*, *su2* ou *su3*, que conferem resistência às sulfonamidas (BEAN et al., 2005), princípio ativo que apresentou uma elevada frequência de cepas resistentes neste estudo, sugerindo, assim, que os isolados de *E. coli* seriam carreadores de integron classe 1. Frequentemente, isolados resistentes às sulfonamidas também apresentam resistência à tetraciclina e ampicilina nos relatos encontrados na literatura (PANTOZZI et al., 2010; THORSTEINSDOTTIR et al., 2010). Malik et al. (2011) encontraram 97% de isolados de *E. coli* proveniente de suínos resistentes à ampicilina, espectinomicina, oxitetraciclina, clortetraciclina e tetraciclina. Prevalências variando de 44 a 93% para ampicilina; 51 a 92% para sulfonamida; e 24 a 100% para tetraciclina têm sido encontradas (HARADA et al., 2005; SCHRÖER et al., 2007; HENDRIKSEN et al., 2008; TANG et al., 2011; JIANG et al., 2011), levando a supor que estejam agrupados em um cassete gênico. A existência desses elementos genéticos

em *E. coli* foi observado por Ajiboye et al. (2009), encontrando 28% de isolados de origem animal com a presença de integron classe 1, e 88% com cassetes gênicos. Devido à alta prevalência de resistência para os antimicrobianos da classe de sulfonamida e tetraciclina, o uso destes princípios ativos na terapêutica da suinocultura tem sido restringido em diversos países. Desde 1998, penicilinas, tetraciclina e sulfonamidas devem ser evitadas em aditivos alimentares e/ou promotores de crescimento (BRASIL, 2009a), entretanto seu uso terapêutico é permitido no Brasil. Além disso, o uso de tetraciclina pode gerar o acúmulo de resíduos desse princípio ativo, o que tem representado barreira para exportação de carne para alguns países, como a Rússia. O florfenicol é a única molécula do grupo dos cloranfenicóis que tem permissão para uso em suinocultura no Brasil, sendo empregado em programas preventivos ou terapêuticos para as principais doenças entéricas e respiratórias de suínos nas fases de recria e terminação (BARCELLOS et al., 2007). Sua resistência é mediada quase sempre por elementos móveis (SCHWARZ et al., 2004). A resistência ao florfenicol em micro-organismos entéricos é preocupante, pois os genes codificantes são passíveis de transferência através de determinantes genéticos móveis por conjugação bacteriana no ambiente intestinal. Rayamajhi et al. (2009) observaram 7,43% de resistência ao florfenicol em isolados de *E. coli* de suíno, entretanto o autor afirma que este número pode vir a aumentar no decorrer dos anos, pois o florfenicol é muito empregado no tratamento de doenças respiratórias e doenças entéricas. Frequência maior já foi relatada por Bischoff et al. (2002), que encontraram 64% de *E. coli* provenientes de suínos resistentes ao florfenicol. Entretanto, em estudo conduzido por Macêdo et al. (2007) o florfenicol foi a droga de melhor eficácia sobre cepas virulentas de *E. coli* em teste “*in vitro*”, sendo 84% dos isolados classificados como sensíveis. Em estudos posteriores, Menin et al. (2008) encontraram resistência em 54% dos isolados de *E. coli* testados, enquanto Pantozzi et al. (2010) relataram 44,2% de cepas dessa bactéria isoladas de suínos apresentando resistência ao cloranfenicol.

As quinolonas são amplamente utilizadas na produção de suínos, principalmente no controle de infecções do trato urinário. A resistência encontrada para qualquer quinolonas de 1ª geração funciona como marcador de possível resistência às fluorquinolonas (quinolonas de 2ª geração)

(HOOPER, 2001), classe de agentes antimicrobianos de largo espectro, sendo utilizados em infecções causadas por micro-organismos resistentes a outras classes de fármacos (SOUZA, 2005). No presente trabalho, o ácido nalidíxico foi à quinolona escolhida para ser testada, sendo observado que 58,9% dos isolados eram resistentes, independente da origem do isolamento. A resistência ao ácido nalidíxico é relatada em outros estudos que avaliaram isolados de *E. coli* de suínos, porém em frequências inferiores às encontradas nesse estudo. Na Groenlândia foram encontrados 12,8% de resistentes, ao passo que na Argentina e na Nigéria, respectivamente, frequências de 20,9% e 37,3% foram relatadas (PANTOZZI et al., 2010; OJO et al., 2010; THORSTEINSDOTTIR et al., 2010). Nesses estudos também é relatada a presença entre 2,3% e 25,3% de isolados apresentando resistência às fluorquinolonas, evidenciando a associação da resistência às quinolonas de primeira e segunda geração.

No presente estudo, não houve isolados resistentes concomitantemente aos antimicrobianos ceftazidima e cefotaxima, demonstrando que não houve isolado com produção de β -lactamase de amplo espectro (ESBL). As ESBL constituem um grupo de enzimas derivadas das β -lactamases clássicas TEM-1, TEM-2 e SHV-1, que representam um importante mecanismo de resistência encontrado em enterobactérias, sendo capazes de hidrolisar penicilinas, cefalosporinas de todas as gerações e monobactâmicos, diminuindo assim as opções terapêuticas. A maioria dessas enzimas é codificada por genes localizados em plasmídeos, que geralmente carregam genes de resistência a outros antimicrobianos, em cepas multi-resistentes. Fezes de suínos saudáveis, amostrada por Machado et al. (2008) apresentaram frequência de 5,7% *E. coli* produtoras de ESBL. Frequência maior em fezes de suíno foi encontrada por Geser et al. (2011), que identificaram 15,2% dos isolados de *E. coli* como ESBL positivas, e Gonçalves et al. (2010) que encontraram 24,61% de cepas desse grupo. Tian et al. (2009) investigaram os perfis de resistência numa produção de suínos na China, durante cinco anos, e observaram um aumento na prevalência de *E. coli* produtora de ESBL (de 2,2% para 10,7%) com o passar dos anos. A presença de *Enterobacteriaceae* produtora ESBL em amostras fecais representa risco para contaminação em carcaças no momento

do abate (GESER et al., 2011). No monitoramento conduzido no presente estudo não há indícios de *E. coli* ESBL positiva contaminando carcaças.

O protocolo de uso de antimicrobianos nos suínos amostrados neste trabalho, de acordo com o relatório que acompanha os lotes abatidos, demonstrou que não houve grande variação nos dos princípios ativos utilizados pelas agro-indústrias. Em todos os lotes amostrados houve o uso de amoxicilina, florfenicol, ceftiofur, colistina e tiamulina. O uso desses antimicrobianos justifica a elevada frequência de cepas resistentes à ampicilina e florfenicol encontrada nos isolados de *E. coli*, bem como o grande número de isolados com sensibilidade intermediária ao florfenicol, o que indica que há uma tendência de aumento das cepas resistentes. Apesar do protocolo comum de uso de antimicrobianos, houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre agroindústrias no número de isolados resistentes ao florfenicol e a gentamicina, o que pode refletir diferenças de intensidade de uso desses princípios ativos.

Com exceção do matadouro-frigorífico A, todos os demais apresentaram frequência de isolados resistentes e multi-resistentes maior nas amostras de fezes do que de carcaças. Resultado semelhante foi encontrado por Wu et al. (2009), quando avaliaram resistência para tetraciclina em isolado de *E. coli* em carcaças suínas em cinco etapas na linha de abate. Os autores demonstraram que a contagem de *E. coli* e a prevalência de isolados resistentes a tetraciclina foram progressivamente reduzidas após cada etapa de amostragem. Em relação à prevalência de *E. coli* resistente à tetraciclina houve redução de 8% (cerca de 1 a 2 log) da sangria até o pré-resfriamento, Frequências de isolados resistentes menores em carne suína quando comparados com fezes de suínos, foram também encontrados por Thorsteinsdottir et al. (2010), porém esses autores não traçam hipóteses sobre a razão da diferença encontrada.

Outros autores sugerem algumas hipóteses para a diminuição da frequência de isolados resistentes ao longo do processo de abate. Uma delas seria a contaminação das carcaças por cepas menos resistentes, que estariam presentes no ambiente do frigorífico, além da contaminação cruzada das carcaças com cepas resistentes originadas do trato intestinal dos animais abatidos e contaminariam as carcaças substituindo a população originada do trato intestinal do animal abatido (ASLAM et al., 2004; WU et al., 2009). Delsol et al. (2010) avaliaram isolados de *E. coli* provenientes de pocilgas de espera e

carcaças de suínos inoculados com *E. coli* multi-resistentes e observaram que as cepas multi-resistentes não foram recuperadas em carcaças pós-refrigeração. Entretanto, foram encontradas outras cepas de *E. coli* em 60% dessas carcaças. Mesmo que haja um declínio na frequência de cepas multi-resistentes nas carcaças, a persistência de qualquer isolado resistente, demonstra que os mesmos podem chegar até o consumidor. Estudos demonstram que os indivíduos que trabalham em contato com aves ou suínos nas granjas e em matadouros-frigoríficos apresentam maior chance de serem colonizados por cepas comensais de *E. coli* resistentes aos antimicrobianos (PRICE et al., 2007; ALALI et al., 2010). Além disso, a seleção de grupos de *E. coli* comensais no trato intestinal de animais que são patogênicos aos humanos, como é o caso das cepas STEC, pode constituir um risco para os consumidores. Ojo et al. (2010) relataram a presença de cepas STEC multi-resistentes nas fezes de suínos e na carne comercializada na Nigéria e sugeriram que a contaminação fecal que ocorria durante o processamento contribuía para essa disseminação. Além disso, no trato intestinal do humano, cepas multi-resistentes podem vir a colonizar e transmitir genes de resistência para bactérias comensais do intestino, como demonstrado em *E. coli* por Trobos et al. (2009).

Os resultados obtidos neste estudo sugerem que existiam falhas no processo de abate dos matadouros-frigoríficos amostrados, indicado pela elevada contagem de coliformes totais encontrada em carcaças originadas de dois matadouros-frigoríficos e isolamento de *Salmonella* sp. e *L. monocytogenes*. Além disso, entre os coliformes totais encontrados nas carcaças foram identificados isolados de *E. coli* resistentes e multi-resistentes frente a antimicrobianos, representando um risco adicional para a inocuidade do produto. Dessa forma, demonstra-se a necessidade de intensificar os programas que identifiquem as falhas e implantem medidas corretivas para reduzir a contaminação de carcaças no pré-resfriamento e garantir um alimento inócuo.

5. CONCLUSÃO

- Houve frequência elevada de isolamento de *Salmonella* sp. tanto em amostras fecais colhidas nas pocilgas de espera, quanto em carcaças no pré-resfriamento nos matadouros-frigoríficos de suínos amostrados.
- O isolamento de *Listeria monocytogenes* foi baixo a partir de amostras de fezes, entretanto foi elevado a partir de carcaças no pré-resfriamento, sugerindo que as fezes não foram origem das cepas encontradas nas carcaças.
- Isolados de *Escherichia coli* provenientes de fezes e de carcaças apresentaram alta frequência de resistência frente á antimicrobianos utilizados na terapêutica humana e animal, indicando a necessidade de uso prudente dessas drogas em suinocultura.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AARESTRUP, F. M.; OLIVER-DURAN, C.; BURCH, D. G. Antimicrobial resistance in swine production. **Animal Health Research Reviews**, v.9, n.2, p.135-148, 2008.

ABIPECS. Relatório ABIPECS 2011. **Associação Brasileira da Indústria Produtora e Exportadora de Carne Suína - ABIPECS**. Disponível em: <http://www.abipecs.org.br/pt/relatorios.html>. 2011.

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales**. 3 ed. Washington: Organização Panamericana de Saúde (OPS), 2001.

ADAMS, M. R; MOSS, M. O. Bacterial agents of foodborne illness. In: ADAMS, M. R; MOSS, M. O. **Food Microbiology**. Cap. 7., 2 ed, p.184-271, 2000a.

ADAMS, M. R; MOSS, M. O. Methods for the microbiological examination of foods. In: ADAMS, M. R; MOSS, M. O. **Food Microbiology**. Cap. 10., 2 ed, p.370-394, 2000b.

ADESIYUN, A. A.; KRISHNAN, C. Occurrence of *Yersinia enterocolitica* 0:3, *Listeria monocytogenes* and thermophilic *Campylobacter* spp. in slaughter pigs and carcasses in Trinidad. **Food Microbiology**, v. 12, p. 99-107, 1995.

AJIBOYE, R. M.; SOLBERG, O. D.; LEE, B. M.; RAPHAEL, E.; DEBROY, C.; RILEY, L. W. Global spread of mobile antimicrobial drug resistance determinants in human and animal *Escherichia coli* and *Salmonella* strains causing community-acquired infections. **Clinical Infectious Diseases**, v. 49, n. 3, p. 365-371, Aug, 2009.

ALALI, W. Q.; SCOTT, H. M.; NORBY, B. Assessing the similarity of antimicrobial resistance phenotypes among fecal *Escherichia coli* isolates from two aggregated occupational cohorts of humans versus swine using cluster analysis and multivariate statistics. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 94, n. 1-2, p. 77-83, Apr, 2010.

ALEKSHUN, M. N.; LEVY, S. B. Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. **Cell**, v. 128, n. 6, p. 1037-1050, Mar, 2007.

ALMEIDA, F. S.; RIGOBELLO, E. C.; MARIN, J. M.; MALUTA, R. P.; ÁVILA, F. A. Diarreia suína: estudo da etiologia, virulência e resistência a antimicrobianos de agentes isolados em leitões na região de Ribeirão Preto - SP, Brasil. **ARS Veterinaria**, v. 23, n. 3, p. 151-157, 2007.

ANDRAUD, M.; ROSE, N.; LAURENTIE, M.; SANDERS, P.; LE ROUX, A.; CARIOLET, R.; CHAUVIN, C.; JOUY, E. Estimation of transmission parameters of a fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli* strain between pigs in experimental conditions. **Veterinary Research**, v. 42, n. 44, p. 1-7, 2011.

ANJUM, M. F.; CHOUDHARY, S.; MORRISON, V.; SNOW, L. C.; MAFURA, M.; SLICKERS, P.; EHRLICH, R.; WOODWARD, M. J. Identifying antimicrobial resistance genes of human clinical relevance within *Salmonella* isolated from food animals in Great Britain. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 66, n. 3, p. 550-559, Mar, 2011.

ARIKAWA, K.; MERAZ, I. M.; NISHIKAWA, Y.; OGASAWARA, J.; HASE, A. Interleukin-8 secretion by epithelial cells infected with diffusely adherent *Escherichia coli* possessing Afa adhesin-coding genes. **Microbiology and Immunology**, v. 49, n. 6, p. 493-503, 2005.

ASLAM, M.; GREER, G. G.; NATTRESS, F. M.; GILL, C. O.; MCMULLEN, L. M. Genotypic analysis of *Escherichia coli* recovered from product and equipment at a beef-packing plant. **Journal of Applied Microbiology**, v. 97, n. 1, p. 78-86, 2004.

AUTIO, T.; SATERI, T.; FREDRIKSSON-AHOMA, M.; RAHKO, M.; LUNDEN, J.; KORKEALA, H. *Listeria monocytogenes* contamination pattern in pig slaughterhouses. **Journal of Food Protection**, v. 63, n. 10, p. 1438–1442, Oct, 2000.

BANDEIRA, R.; PELLEGRINI, D. C. P.; CARDOSO, M. Ocorrência de *Salmonella* sp. em cortes de pernil provenientes de lotes suínos portadores ao abate. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 35, n. 2, p. 203-208, 2007.

BARCELLOS D. E. S. N.; RODRIGUES, N. C.; MIGLIAVACCA, F.; OLIVEIRA, S. J.; BOROWSKI S. M. Ocorrência da salmonelose septicêmica em suínos no período neonatal. In: **I Congresso Nacional de Veterinários Especialistas em Suínos**, Curitiba, PR. p. 29. 1984.

BARCELLOS, D.; SOBESTIANSKY, J.; SOBESTIANSKY, T. B. Uso de antimicrobianos. In: SOBESTIANSKY, J.; BARCELLOS, D. **Doenças dos suínos**. 2ª ed, Cap. Uso de antimicrobianos, p. 683-717, 2007.

BEAN, D. C.; LIVERMORE, D. M.; PAPA, I.; HALL, L. M. C. Resistance among *Escherichia coli* to sulphonamides and other antimicrobials now little used in man. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 56, p. 962-964, Set, 2005.

BELCEIL, P. A.; FRAVALO, P.; CHAUVIN, C.; FABLET, C.; SALVAT, G.; MADEC, F. *Listeria* spp. contamination in piggeries: comparison of three sites of environmental swabbing for detection and risk factor hypothesis. **Journal of Veterinary Medicine B**, v. 50, n. 4, p. 155-60, 2003.

BERENDS, B. R.; URLINGS H. A. P.; SNIJDERS, J. M. A. Identification and quantification of risk factors in animal management and transport regarding *Salmonella* spp. in pigs. **International Journal of Food Microbiology**, v. 30, p. 37-53, 1996.

BERENDS, B. R.; VAN KNAPEN, F.; SNIJDERS, J. M.; MOSSEL, D. A. Identification and quantification of risk factors regarding *Salmonella* spp. on pork carcasses. **International Journal of Food Microbiology**, v. 36, n. 2-3, p. 199-206, May, 1997.

BESSA, M. C.; COSTA, M.; CARDOSO, M. Prevalência de Salmonella em suínos abatidos em frigoríficos do RS. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 24, n. 2, p. 80-84, Abr/Jun, 2004.

BISCHOFF, K. M.; WHITE, D. G.; MCDERMOTT, P. F.; ZHAO, S.; GAINES, S.; MAURER, J. J.; NISBET, D. J. Characterization of chloranfenicol resistance in beta-hemolytic Escherichia coli associated with diarrhea in neonatal swine. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, n. 2, p. 389-394, Fev, 2002.

BLAGOJEVIC, B.; ANTIC, D.; DUCIC, M.; BUNCIC, S. Ratio between carcass- and skin-microflora as an abattoir process hygiene indicator. **Food Control**, v. 22, p. 186-190, 2011.

BLAHA, T. The use of antimicrobial substances in food animals: the big picture. In: **9th International Conference on the Epidemiology and Control of biological, chemical and physical hazards in pigs and pork, 2011**, Maastricht, Anais, v. 1, p. 131-133, 2011.

BOLTON, D. J.; PEARCE, R. A.; SHERIDAN, J. J.; BLAIR, I. S.; MCDOWELL, D. A.; HARRINGTON, D. Washing and chilling as critical control points in pork slaughter hazard analysis and critical control point (HACCP) systems. **Journal of Applied Microbiology**, n. 92, p. 893-902, 2002.

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

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

BOUVET, J.; BAVAI, C.; ROSSEL, R.; LE ROUX, A.; MONTET, M. P.; MAZUY, C.; VERNOZY-ROZAND, C. Evolution of pig carcass and slaughterhouse environment contamination by Salmonella. **Revue de Medecine Veterinaire**, v. 154, n. 12, p. 775-779, 2003.

BOYEN, F.; HAESBROUCK, F.; MAES, D.; VANIMMERSEEL, F.; DUCATELLE, R.; PASMANS, F. Non-typhoidal Salmonella infections in pigs: A closer look at epidemiology, pathogenesis and control. **Veterinary Microbiology**, n. 130, p. 1-19, 2008.

BRASIL. Instrução Normativa SDA/MAA 42/1999. **Plano nacional de controle de resíduos em produtos de origem animal**. Disponível em: www.agricultura.gov.br. 1999.

BRASIL. Resolução - RDC nº 12. **Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**. Disponível em: www.agricultura.gov.br. 2001.

BRASIL. Resolução - RDC nº 243. **Programa de análise de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal - PAMvet.** Disponível em: www.agricultura.gov.br. 2003a.

BRASIL. Instrução Normativa Nº 62/2003. **Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água.** Disponível em: www.agricultura.gov.br. 2003b.

BRASIL. Manual de Procedimentos. **Programa nacional de monitoramento da prevalência e da resistência bacteriana em frango – PREBAF.** ANVISA, 2004.

BRASIL. Instrução Normativa SDA/MAPA 65/2006. **Regulamento técnico sobre os procedimentos para a fabricação e o emprego de rações, suplementos, premixes, núcleos ou concentrados com medicamentos para os animais de produção.** Disponível em: www.agricultura.gov.br. 2006.

BRASIL. Circular Nº 130/2007/CGPE/DIPOA. **Exportações de carne suína para os estados-membros da União Europeia.** Disponível em: www.agricultura.gov.br. 2007.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual integrado de vigilância e controle da febre tifóide.** Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2008a.

BRASIL. Relatório do Monitoramento da prevalência e do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos em enterococcus e salmonelas isolados de carcaças de frango congeladas comercializadas no Brasil. **Programa nacional de monitoramento da prevalência e da resistência bacteriana em frango – PREBAF.** ANVISA, 2008b.

BRASIL. Instrução Normativa Nº26/2009. **Regulamento técnico para a fabricação, o controle de qualidade, a comercialização e o emprego de produtos antimicrobianos de uso veterinário.** Disponível em: www.agricultura.gov.br. 2009a.

BRASIL. Instrução Normativa Nº09/2009. **Diretrizes para a aplicação dos procedimentos de controle de Listeria monocytogenes em produtos prontos para o consumo, previstos na Instrução.** Disponível em: www.agricultura.gov.br. 2009b.

BRITO, B. G.; VIDOTTO, M. C.; BERBEL, M. M.; TAGLIARI, K. C. Fatores de virulência presentes em amostras de E. coli uropatogênicas - UPEC para suínos. **Ciência Rural**, v. 34, n. 2, p. 645-652, Mar/Abr, 2004.

CAPITA, R.; ALONSO-CALLEJA, C.; MORENO, B.; GARCÍA-FERNÁNDEZ, M. C. Occurrence of Listeria species in retail poultry meat and comparison of a cultural/immunoassay for their detection. **International Journal of Food Microbiology**, v. 65, p. 75-82, 2001.

CARPENTIER, B.; CERF, O. Review - Persistence of *Listeria monocytogenes* in food industry equipment and premises. **International Journal of Food Microbiology**, v. 145, n. 1, p. 1-8, Jan, 2011.

CASTAGNA, S. M. F.; SCHWARZ, P.; CANAL, C. W.; CARDOSO, M. R. I. Prevalência de suínos portadores de *Salmonella* sp. ao abate e contaminação de embutidos frescal. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32, n. 2, p. 141-147. 2004.

CAVACO, L. M.; ABATIH, E.; AARESTRUP, F. M.; GUARDABASSI, L. Selection and persistence of CTX-M-producing *Escherichia coli* in the intestinal flora of pigs treated with amoxicillin, ceftiofur, or cefquinome. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 52, n. 10, p. 3612-3616, Oct, 2008.

CDC. National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases: *Escherichia coli* O157:H7 and other Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC). **Centers For Disease Control And Prevention**. Disponível em: <http://www.cdc.gov/nczved/divisions/dfbmd/diseases/ecoli_o157h7/>. Acesso em: 15 out. 2011.

CODEX ALIMENTARIUS. **Code of practice to minimize and contain antimicrobial resistance (CAC/RCP 61- 2005)**. Roma, 2005.

CORNU, M.; KALMOKOFF, M.; FLANDROIS, J. P. Modelling the competitive growth of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* in enrichment broths. **International Journal of Food Microbiology**, v. 73, n. 2-3, p. 261-274, Mar, 2002.

COSSART, P.; TOLEDO-ARANA, A. *Listeria monocytogenes*, a unique model in infection biology: an overview. **Microbes and Infection**, v. 10, n. 9, p. 1041-1060, Jul, 2008.

COSTA, M. M.; SILVA, M. S.; SPRICIGO, D. A.; WITT, N. M.; MARCHIORO, S. B.; KOLLING, L.; VARGAS, A. P. C. Epidemiology, molecular characterization and resistance to antimicrobials of *Escherichia coli* isolated from South-Brazilian pig herds. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 26, n. 1, p. 5-8, 2006.

COSTA, M. M.; MABONI, F.; WEBER, S. S.; FERRONATO, A. I.; SCHRANK, I. S.; VARGAS, A. P. C. Patotipos de *Escherichia coli* na suinocultura e suas implicações ambientais e na resistência aos antimicrobianos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 76, n. 3, p. 509-516, 2009a.

COSTA, A. J. L.; KALE, P. L.; VERMELHO, L. L. Indicadores de Saúde. In: MEDRONHO, R. A.; BLOCH, K. V.; LUIZ, R. R.; WERNECK, G. L. **Epidemiologia**. 2 ed. Atheneu, p. 31-82, 2009b.

COSTA, M. M.; DRESCHER, G.; MABONI, F.; WEBER, S. S.; SCHRANK, A.; VAINSTEIN, M. H.; SCHRANK, I. S.; VARGAS, A. C. Virulence factors, antimicrobial resistance, and plasmid content of *Escherichia coli* isolated in swine commercial farms. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 1, p. 30-36, 2010.

CSLI/NCCLS, Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; Approved Standard – 8. ed. **CLSI/NCCLS documento M2-A8**. Wayne, 2003.

CSLI/NCCLS, Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial testing; 15 Suplemento Informativo. **CLSI/NCCLS documento M100-S15**. Wayne, 2005.

CSLI, Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals; Approved Standard – 3. ed. **CLSI/NCCLS documento M31-A3**. CLSI, Wayne, 2008.

CUMMINS, A. J.; FIELDING, A. K.; MCLAUCHLIN, J. *Listeria ivanovii* infection in a patient with AIDS. **Journal of Infection**, v. 28, p. 89–91, 1994.

D'AOUST, J. Y. Salmonella and the international food trade. **International Journal of Food Microbiology**, v. 24, n. 1-2, p. 11-31, Dec, 1994.

D'AOUST, J. K. Salmonella species. In: DOYLE, M. P.; BEAUCHAT, L. R.; MONTVILLE, T. J. **Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers**. American Society for Microbiology, Washington D. C., USA, p. 129-158, 1997.

DE BUSSE, E. V.; MAES, D.; HOUF, K.; DEWULF, J.; IMBERECHTS, H.; BERTRAND, S.; DE ZUTTER, L. Detection and characterization of Salmonella in lairage, on pig carcasses and intestines in five slaughterhouses. **International Journal of Food Microbiology**, v. 145, n. 1, p. 279-286, Jan, 2011.

DEBROY, C.; MADDOX, C. W. Identification of virulence attributes of gastrointestinal Escherichia coli isolates of veterinary significance. **Animal Health Research Reviews**, v. 2, n. 2, p. 129-140, Dec, 2001.

DELHALLE, L.; DE SADELEER, L.; BOLLAERTS, K.; FARNIR, F.; SAEGERMAN, C.; KORSAK, N.; DEWULF, J.; DE ZUTTER, L.; DAUBE, G. Risk factors for Salmonella and hygiene indicators in the 10 largest Belgian pig slaughterhouses. **Journal of Food Protection**, v. 71, n. 7, p. 1320-1329, Jul, 2008.

DELSOL, A. A.; HALFHIDE, D. E.; BAGNALL, M. C.; RANDALL, L. P.; ENNE, V. I.; WOODWARD, M. J.; ROE, J. M. Persistence of a wide type Escherichia coli and its multiple antibiotic-resistant (MAR) derivatives in the abattoir and on chilled pig carcasses. **International Journal of Food Microbiology**, v. 140, p. 249-253, 2010.

DIKMEVIUS. Antimicrobial resistance in food-producing animals of public health concern. An overview of the current situation and options for control. In: **9th International conference on the epidemiology and control of biological, chemical and physical hazards in pigs and pork, 2011**, Maastricht, Anais, v. 1, p. 91, 2011.

DUBREUIL, J. D. Escherichia coli STb toxin and colibacillosis: knowing is half the battle. **FEMS Microbiology Letters**, v. 278, n. 2, p. 137-145, Jan, 2008.

EFSA. Report of the Task Force on Zoonoses Data Collection on the analysis of the baseline survey on the prevalence of Salmonella in slaughter pigs, Part A: Salmonella prevalence estimates. **EFSA Journal** **135**, 111p. Disponível em: www.efsa.europa.eu, 2008a.

EFSA. Report of the Task Force on Zoonoses Data Collection on the Analysis of the baseline survey on the prevalence of Salmonella in slaughter pigs, Part B: factors associated with Salmonella infection in lymph nodes, Salmonella surface contamination of carcasses, and the distribution of Salmonella serovars. **EFSA Journal** **206**, 111p. Disponível em: www.efsa.europa.eu, 2008b.

EFSA. Analysis of the baseline survey on the prevalence of Salmonella in holdings with breeding pigs, in the EU, 2008, Part A: Salmonella prevalence estimates. **EFSA Journal** **2009**, v. 7, n. 12, 93p. Disponível em: www.efsa.europa.eu, 2009.

EFSA. Quantitative Microbiological Risk Assessment on Salmonella in slaughter and Breeder pigs: Final Report. **EFSA Journal** **2010**, 437p. Disponível em: www.efsa.europa.eu, 2010.

EU. Regulation (EC) No 2073/2005 on microbial criteria for foodstuffs. **Official Journal of the European Union**. L 338, 22.12. 2005.

EUZE'BY, J. Notification that new names and new combinations have appeared in volume 60, part 6, of the IJSEM. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 60, p. 1987-1988, 2010a.

EUZE'BY, J. Notification that new names and new combinations have appeared in volume 60, part 9, of the IJSEM. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 60, p. 2695-2692, 2010b.

EVANS, M. R.; SWAMINATHAN, B.; GRAVES, L. M.; ALTERMANN, E.; KLAENHAMMER, T. R.; FINK, R. C.; KERNODLE, S.; KATHARIOU, S. Genetic markers unique to *Listeria monocytogenes* serotype 4b differentiate epidemic clone II (hot dog outbreak strains) from other lineages. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, n. 4, p. 2383-2390, Apr, 2004.

FAIRBROTHER, J. M.; NADEAU, E.; GYLES, C. L. Escherichia coli in postweaning diarrhea in pigs: an update on bacterial types, pathogenesis, and prevention strategies. **Animal Health Research Reviews**, v. 6, n. 1, p. 17-39, 2005.

FAIRBROTHER, J. M.; GYLES, C. L. Escherichia coli Infections. In: STRAW, B. E.; ZIMMERMAN, J. J.; D'ALLAIRE, S.; TAYLOR, D. J. **Diseases of Swine**. 9^o edition, Cap. 38, p. 639-680, 2006.

FAO/WHO/OIE.: Joint FAO/WHO/OIE Expert Meeting on Critically Important Antimicrobials. **Report of a meeting held in FAO**, Italy, 26-30 November, 2007. FAO/Rome, Italy, and WHO, Geneva, Switzerland, 52 p., 2008.

FERRONATTO, A. **Contaminação de carcaças por *Listeria sp.* em diferentes etapas do abate de suínos**. Programa de Microbiologia Agrícola e do Ambiente, UFRGS. Dissertação, 64p., 2010.

FLECKENSTEIN, J. M.; HARDWIDGE, P. R.; MUNSON, G. P.; RASKO, D. A.; SOMMERFELT, H.; STEINSLAND, H. Molecular mechanisms of enterotoxigenic *Escherichia coli* infection. **Microbes and Infection**, n. 12, p. 89-98, 2010.

FOSSE, J.; SEEGER, H.; MAGRAS, C. Prevalence and risk factors for bacterial food-borne zoonotic hazards in slaughter pigs: a review. **Zoonoses and Public Health**, n. 56, p. 429-454, 2009.

GEBREYES, W. A.; DAVIES, P. R.; TURKSON, P. K.; MORROW, W. E.; FUNK, J. A.; ALTIER, C.; THAKUR, S. Characterization of antimicrobial-resistant phenotypes and genotypes among *Salmonella enterica* recovered from pigs on farms, from transport trucks, and from pigs after slaughter. **Journal of Food Protection**, v. 64, n. 4, p. 698-705, Apr, 2004.

GEBREYES, W. A.; THAKUR, S.; MORROW, W. E. *Campylobacter coli*: prevalence and antimicrobial resistance in antimicrobial-free (ABF) swine production systems. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 56, n. 4, p. 765-768, Oct, 2005.

GESER, N.; STEPHAN, R.; KUHNERT, P.; ZBINDEN, R.; KAEPPELI, U.; CERNELA, N.; HAECHLER, H. Fecal carriage of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in swine and cattle at slaughter in Switzerland. **Journal of Food Protection**, v. 74, n. 3, p. 446-449, 2011.

GHAFFIR, Y.; CHINA, B.; DIERICK,.; DE ZUTTER, L.; DAUBE, G. Hygiene Indicator Microorganisms for Selected Pathogens on Beef, Pork, and Poultry Meats in Belgium. **Journal of Food Protection**, v. 71, n. 1, p. 35-45, 2008.

GILOT, P.; GENICOT, A.; ANDRE, P. Serotyping and esterase typing for analysis of *Listeria monocytogenes* populations recovered from foodstuffs and from human patients with listeriosis in Belgium. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 34, n. 4, p. 1007-1010, Apr, 1996.

GONÇALVES, A.; TORRES, C.; SILVA, N.; CARNEIRO, C.; RADHOUANI, H.; COELHO, C.; ARAUJO, C.; RODRIGUES, J.; VINUE, L.; SOMALO, S.; POETA, P.; IGREJAS, G. Genetic Characterization of Extended-Spectrum β -Lactamases in *Escherichia coli* Isolates of Pigs from a Portuguese Intensive Swine Farm. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 7, n. 12, p. 1569-1573, 2010.

GOULET, V.; ROCOURT, J.; REBIERE, I.; JACQUET, C.; MOYSE, C.; DEHAUMONT, P.; SALVAT, G.; VEIT, P. Listeriosis outbreak associated with the consumption of rillettes in France in 1993. **Journal of Infectious Diseases**, v. 177, n. 1, p. 155-160, Jan, 1998.

GRIFFITH, R. W.; SCHWARTZ, K. J.; MEYERHOLZ, D. K. *Salmonella*. In: STRAW, B. E.; ZIMMERMAN, J. J.; D'ALLAIRE, S.; TAYLOR, D. J. **Diseases of Swine**. 9^a edition, Cap. 45, 739-751, 2006.

GUARDABASSI, L.; COURVALIN, P. Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance. In: AARESTRUP, F. M. **Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin**. Washington D.C.: ASM Press, p. 1-18, 2006.

GUARDABASSI, L.; JENSEN, L. B.; KRUSE, H. **Guia de antimicrobianos em Veterinária**. Porto Alegre: Arned, 267 p., 2010.

GUIBOURDENCHE, M.; ROGGENTIN, P.; MIKOLEIT, M.; FIELDS, P. I.; BOCKEMÜHL, J.; GRIMONT, P. A. D.; WEILL, F. X. Supplement 2003 – 2007 (No. 47) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme. **Research in Microbiology**, n. 161, p. 26-29, 2010.

HARADA, K.; ASAI, T.; KOJIMA, A.; ODA, C.; ISHIHARA, K.; TAKAHASHI, T. Antimicrobial susceptibility of pathogenic *Escherichia coli* isolated from sick cattle and pigs in Japan. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 67, n. 10, p. 999-1003, Oct, 2005.

HARRINGTON, S. M.; DUDLEY, E. G.; NATARO, J. P. Pathogenesis of enteroaggregative *Escherichia coli* infection. **FEMS Microbiology Letters**, v. 254, n. 1, p. 12-18, Jan, 2006.

HELLSTRÖM, S.; LAUKKANEN, R.; SIEKKINEN, K. M.; RANTA, J.; MAIJALA, R.; KORKEALA, H. *Listeria monocytogenes* contamination in pork can originate from farms. **Journal of Food Protection**, v. 73, n. 4, p. 641-648, Apr, 2010.

HENDRIKSEN, R. S.; MEVIUS, D.J.; SCHROETER, A.; TEALE, C.; JOUY, E.; BUTAYE, P.; FRANCO, A.; UTINANE, A.; AMADO, A.; MORENO, M.; GREKO, C.; STÄRK, K. D.; BERGHOLD, C.; MYLLYNIEMI, A. L.; HOSZOWSKI, A.; SUNDE, M.; AARESTRUP, F. M. Occurrence of antimicrobial resistance among bacterial pathogens and indicator bacteria in pigs in different European countries from year 2002-2004: the ARBAO-II study. **Acta Veterinaria Scandinavia**, v. 50, p. 19, Jun, 2008.

HOFER, E.; RIBEIRO, R.; FEITOSA, D.P. Species and sorovars of the genus *Listeria* isolated from different sources in Brazil from 1971 to 1997. **Memorias do Instituto Adolfo Cruz**, v. 95, n. 5, p. 615-620, 2000.

HOLT, J. G.; KRIEG, N. R.; SNATH, P. H. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. 9. Ed. Williams & Wilkims, 787p., 1994.

HOOPER, D. C. Emerging mechanism of fluoroquinolone resistance. **Emerging Infectious Diseases**, v. 7, n. 2, p. 337-341, 2001.

HORTER, D. C.; YOON, K. J.; ZIMMERMAN, J. J. A review of porcine tonsils in immunity and disease. **Animal Health Research Review**, n. 4, p. 143-155, 2003.

HUANG, D. B.; MOHANTY, A.; DUPONT, H. L.; OKHUYSEN, P. C.; CHIANG, T. A review of an emerging enteric pathogen: enteroaggregative *Escherichia coli*. **Journal of Medical Microbiology**, v. 55, p. 1303-1311, 2006.

HUMPHREY, T. Salmonella, stress responses and food safety. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, p. 504-509, 2004.

HURD, H. S.; MCKEAN, J. D.; WESLEY, I. V.; KARRIKER, L. A. The effect of lairage on Salmonella isolation from market swine. **Journal of Food Protection**, n. 64, p. 939-944, 2001.

JACQUET, C.; CATIMEL, B.; BROSCHE, R.; BUCHRIESER, C.; DEHAUMONT, P.; GOULET, V.; LEPOUTRE, A.; VEIT, P.; ROCOURT, J. Investigations related to the epidemic strain involved in the French listeriosis outbreak in 1992. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 61, n. 6, p. 2242-2246, Jun, 1995.

JIANG, H.; LÜ, D.; CHEN, Z.; WANG, X.; CHEN, J.; LIU, Y.; LIAO, X.; LIU, J.; ZENG, Z. High prevalence and widespread distribution of multi-resistant Escherichia coli isolates in pigs and poultry in China. **The Veterinary Journal**, v. 187, p. 99-103, 2011.

KANUGANTI, S. R.; WESLEY, I. V.; REDDY, P. G.; MCKEAN, J.; HURD, H. S. Detection of Listeria monocytogenes in pigs and pork. **Journal of Food Protection**, v. 65, n. 9, p. 1470-1474, 2002.

KAPER, J. B.; NATARO, J. P.; MOBLEY, H. L. Pathogenic Escherichia coli. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, n. 2, p. 123-140, 2004.

KÄSBOHRER, A.; PROTZ, D.; HELMUTH, R.; NÖCKLER, K.; BLAHA, T.; CONRATHS, F. J.; GEUE, L. Salmonella in slaughter pigs of German origin: An epidemiological study. **European Journal of Epidemiology**, n. 16, p. 141-146, 2000.

KASNOWSKI, M. C.; FRANCO, R. M.; OLIVEIRA, L. A. T.; VALENTE, A. M.; CARVALHO, J. C. Escherichia coli: uma revisão bibliográfica. **Higiene Alimentar**, v. 21, n. 154, p. 44-48, Set, 2007.

KATHARIOU, S. Listeria monocytogenes Virulence and Pathogenicity, a Food Safety Perspective. **Journal of Food Protection**, v. 65, n. 11, p. 1811-1829, 2002.

KICH, J. D.; MORES, N.; PIFFER, I. A.; COLDEBELLA, A.; AMARAL, A.; RAMMINGER, L.; CARDOSO, M. Fatores associados à soroprevalência de Salmonella em rebanhos comerciais de suínos. **Ciência Rural**, v. 35, n. 2, p. 398-405, 2005.

KICH, J. D.; COLDEBELLA, A.; MORES, N.; FRATAMICO, P. M.; CALL, J. E.; LUCHANSKY, J. B.; FEDORKA-CRAY, P. Prevalence and antibiotic resistance of salmonella isolates recovered from finishing swine herds and slaughter facilities in southern Brazil. In: **23th International Association for Food Protection Annual Meeting, 2006**, Calgary. IAFP annual Meeting. Calgary: IAFP, p. 117-117, 2006.

KICH, J. D.; COLDEBELLA, A.; MORES, N.; NOGUEIRA, M. G.; CARDOSO, M.; FRATAMICO, P. M.; CALL, J. E.; FEDORKA-CRAY, P.; LUCHANSKY, J. B.

Prevalence, distribution, and molecular characterization of *Salmonella* recovered from swine finishing herds and a slaughter facility in Santa Catarina, Brazil. **International Journal of Food Microbiology**, v. 151, p. 307-313, 2011.

KOLLING, L. **Classificação filogenética e caracterização patotípica de isolados de *Escherichia coli* patogênicos e comensais de suínos da região sul do Brasil**. Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, UFSM. Dissertação, 55 p., 2009.

KUNIGK, L.; ALMEIDA, M. C. B. Action of peracetic acid on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in suspension or settled on stainless steel surfaces. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 32, p. 38-41, Jan, 2001.

LAMONT, R. F.; SOBEL, J.; MAZAKITOV, S.; KUSANOVIC, J. P.; VAISBUCH, E.; KIM, S. K.; ULDBJERG, N.; ROMERO, R. Listeriosis in human pregnancy: a systematic review. **Journal Perinatal Medicine**, v. 39, p. 227-236, 2011.

LANDGRAF, M. Microrganismos indicadores. In: FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. Cap. 3, p. 27-31, 1996.

LE BOUGUENEC, C.; SERVIN, A. L. Diffusely adherent *Escherichia coli* strains expressing Afa/Dr adhesins (Afa/Dr DAEC): hitherto unrecognized pathogens. **FEMS Microbiology Letters**, v. 256, n. 2, p.185-94, Mar, 2006.

LENAHAN, M.; CROWLEY, H.; O'BYRNE, C.; SWEENEY, T.; SHERIDAN, J. J. The potential use of chilling to control the growth of Enterobacteriaceae on porcine carcasses and the incidence of *E. coli* O157:H7 in pigs. **Journal of Applied Microbiology**, v. 106, p. 1512-1520, 2009.

LESSING, M. P. A.; CURTIS, G. D. W.; BOWLER, I. C. J. *Listeria ivanovii* infection. **Journal of Infection**, v. 29, p. 230-231, 1994.

LETELLIER, A.; BEAUCHAMP, G.; GUÉVREMONT, E.; D'ALLAIRE, S.; HURNIL, D.; QUESSY, S. Risk factors at slaughter associated with presence of *Salmonella* on hog carcasses in Canada. **Journal Food Protection**, v. 72, n. 11, p. 2326-2331, 2009.

LEVERSTEIN-VAN HALL, M. A.; DIERIKX, C. M.; COHEN STUART, J.; VOETS, G. M.; VAN DEN MUNCKHOF, M. P.; VAN ESSEN-ZANDBERGEN, A.; PLATTEEL, T.; FLUIT, A. C.; VAN DE SANDE-BRUIJNSMA, N.; SCHARINGA, J.; BONTEN, M. J.; MEVIUS, D. J. National ESBL surveillance group. Dutch patients, retail chicken meat and poultry share the same ESBL genes, plasmids and strains. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 16, n. 6, p. 873-880, Jun, 2011.

LINDBLAD, M.; LINDMARK, H.; LAMBERTZ, S. T.; LINDQVIST, R. Microbiological baseline study of swine carcasses at Swedish slaughterhouses. **Journal of Food Protection**, v. 70, n. 8, p. 1790-1797, 2007.

LUDWIG, W.; SCHLEIFER, K. H.; WHITMAN, W. B. Listeriaceae. In: VOS, P.; GARRITY, G.; JONES, D.; KRIEG, N. R.; LUDWIG, W.; RAINEY, F. A.;

SCHLEIFER, K.; WHITMAN, W. B. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology – vol 3**, 2 ed., p. 244-268, 2009.

LUNDÉN, J. M.; AUTIO, T. J.; KORKEALA, H. J. Transfer of persistent *Listeria monocytogenes* contamination between food-processing plants associated with a dicing machine. **Journal of Food Protection**, v. 65, p. 1129-1133, 2002.

MACÊDO, N. R.; MENEZES, C. P. L.; LAGE, A. P.; RISTOW, L. E.; REIS, A.; GUEDES, R. M. C. Detecção de cepas patogênicas pela PCR multiplex e avaliação da sensibilidade a antimicrobianos de *Escherichia coli* isoladas de leitões diarreicos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 5, p. 1117-1123, 2007.

MACFADDIN, J. F. **Biochemical tests for identification of medical bacteria**. 3. Ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2000.

MACHADO, E.; COQUE, T. M.; CANTÓN, R.; SOUSA, J. C.; PEIXE, L. Antibiotic resistance integrons and extended-spectrum B-lactamases among *Enterobacteriaceae* isolates recovered from chickens and swine in Portugal. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 62, p. 296-302, 2008.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; DUNLAP, P. V.; CLARK, D. P. **Microbiologia de Brock**. 12. ed. Porto Alegre: ArtMed, 1128p., 2010.

MALIK, Y. S.; CHANDER, Y.; OLSEN, K.; GOYAL, S. M. Antimicrobial resistance in enteric pathogens isolated from Minnesota pigs from 1995 to 2004. **The Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 75, p. 117-121, 2011.

MCLAUCHLIN, J.; HALL, S. M.; VELANI, S. K.; GILBERT, R. J. Human listeriosis and paté: a possible association. **British Medical Journal**, v. 303, n. 6805, p. 773-775, Sep, 1991.

MCLAUCHLIN, J.; MITCHELL, R. T.; SMERDON, W. J.; JEWELL, K. *Listeria monocytogenes* and listeriosis: a review of hazard characterisation for use in microbiological risk assessment of foods. **International Journal of Food Microbiology**, n. 92, p. 15-33, 2004.

MEAD, P. S.; DUNNE, E. F.; GRAVES, L.; WIEDMANN, M.; PATRICK, M.; HUNTER, S.; SALEHI, E.; MOSTASHARI, F.; CRAIG, A.; MSHAR, P.; BANNERMAN, T.; SAUDERS, B. D.; HAYES, P.; DEWITT, W.; SPARLING, P.; GRIFFIN, P.; MORSE, D.; SLUTSKER, L.; SWAMINATHAN, B. *Listeria* outbreak working group. Nationwide outbreak of listeriosis due to contaminated meat. **Epidemiology and Infection**, v. 134, n. 4, p. 744-751, Aug, 2006.

MENIN A.; RECK, C.; SOUZA, D.; KLEIN, C.; VAZ, E. Agentes bacterianos enteropatogênicos em suínos de diferentes faixas etárias e perfil de resistência a antimicrobianos de cepas de *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. **Ciência Rural**, v. 38, n. 6, p. 1687-1693, 2008.

MICHAEL, G. B.; BUTAYE, P.; CLOECKAERT, A.; SCHWARZ, S. Genes and mutations conferring antimicrobial resistance in Salmonella: an update. **Microbes and Infection**, v. 8, p. 1898-1914, 2006.

MILLER, G. Y.; DICKSON, J. S. Food safety issues and the microbiology of pork. In: HEREDIA, N.; WESLEY, I.; GARCÍA, S. **Microbiologically Safe Foods**. Cap. 10, p.209-226, 2009.

MØLBAK, K.; OLSEN, J. E.; WEGENER, H. C. Salmonella infections. In: **Foodborne Infections and Intoxications**. Cap.3, p. 57-114, 3ed., 2006.

MONTEIRO-NETO, V.; BANDO, S. Y.; MOREIRA-FILHO, C. A.; GIRON, J. A. Characterization of an outer membrane protein associated with haemagglutination and adhesive properties of enteroaggregative Escherichia coli O111:H12. **Cell Microbiology**, v. 5, p. 533-547, 2003.

MORÉS, N.; ZANELLA, J. Perfil Sanitário da Suinocultura do Brasil. Comunicado Técnico Embrapa Suínos e Aves. Disponível em: www.cnpsa.embrapa.br, 2001.

MORÉS, N.; MORENO, A. M. Colibacilose neonatal. In: SOBESTIANSKY, J.; BARCELLOS, D. **Doenças dos Suínos**. 2ª ed, Cap. Bacterioses, p. 72-77, 2007a.

MORÉS, N.; MORENO, A. M. Colibacilose da terceira semana. In: SOBESTIANSKY, J.; BARCELLOS, D. **Doenças dos Suínos**. 2ª ed, Cap. Bacterioses, p. 71-72, 2007b.

MÜRMAN, L.; SANTOS, M.C.; CARDOSO, M. Prevalence, genetic characterization and antimicrobial resistance of Salmonella isolated from fresh pork sausages in Porto Alegre, Brazil. **Food Control**, v. 20, p. 191-195, 2009.

OBENG, A. S.; RICKARD, H.; NDI, O.; SEXTON, M.; BARTON, M. Antibiotic resistance, phylogenetic grouping and virulence potential of Escherichia coli isolated from the faeces of intensively farmed and free range poultry. **Veterinary Microbiology**, v. 154, p. 305-315, 2012.

OJO, O. E.; AJUWAPE, A. T. P.; OTESILE, E. B.; OWOADE, A. A.; OYEKUNLE, M. A.; ADETOSOYE, A. I. Potentially zoonotic shiga toxin-producing Escherichia coli serogroups in the faeces and meat food-producing animals in Ibadan, Nigeria. **International Journal of Food Microbiology**, v. 142, p. 214-221, 2010.

OKEKE, I. N.; NATARO, J. Enteroaggregative Escherichia coli. **Lancet Infectious Diseases**, v. 1, p. 304-313, 2001.

OLIVEIRA, M. M. M.; BRUGNERA, D. F.; ALVES, E.; PICCOLI, R. H. Biofilm formation by Listeria monocytogenes on stainless steel surface and biotransfer potential. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 41, p. 97-106, 2010.

PALERMO-NETO, J. Uso de antimicrobianos em suinocultura e desenvolvimento de resistência bacteriana: uma análise de risco. **Porkworld: Animalworld**, Set, 2011.

PANTOZZI, F. L.; MOREDO, F. A.; VIGO, G. B.; GIACOBONI, G. I. Resistencia a los antimicrobianos en bacterias indicadoras y zoonóticas aisladas de animales domésticos em Argentina. **Revista Argentina de Microbiologia**, v. 42, p. 49-52, 2010.

PARSOT, C. Shigella spp. and enteroinvasive Escherichia coli pathogenicity factors. **FEMS Microbiology Letters**, n. 252, p.11-18, 2005.

PEARCE, R. A.; BOLTON, D. J.; SHERIDAN, J. J.; MCDOWELL, D. A.; BLAIR, I. S.; HARRINGTON, D. Studies to determine the critical control points in pork slaughter hazard analysis and critical control point systems. **International Journal of Food Microbiology**, n. 90, p. 331-339, 2004.

PFEIFFER, D. U. **Veterinary Epidemiology: An introduction**. Wiley-Blackwell, 135p., 2010.

PIGOTT, D. Foodborne Illness. **Emergency Medicine Clinics of North America**, n. 26, p. 475-497, 2008.

PIRAS, F.; BROWN, D. J.; MELONI, D.; MUREDDU, A.; MAZZETTE, R. Investigation of Salmonella enterica in Sardinian slaughter pigs: prevalence, serotype and genotype characterization. **International Journal of Food Microbiology**, v. 151, n. 2, p. 201-209, Dec, 2011.

PRENCIPE, V. A.; RIZZI, V.; ACCIARI, V.; IANNETTI, L.; GIOVANNINI, A.; SERRAINO, A.; CALDERONE, D.; ROSSI, A.; MORELLI, D.; MARINO, L.; MICLIORATI, G.; CAPORALE, V. Listeria monocytogenes prevalence, contamination levels and strains characterization throughout the Parma ham processing chain. **Food Control**, v. 25, p. 150-158, 2012.

PRENDERGAST, D. M.; DUGGAN, S. J.; FANNING, S.; CORMICAN, M.; GONZALES-BARRON, U.; BUTLER, F.; UFFY, G. Prevalence and numbers of Salmonella spp. and Enterobacteriaceae on pork cuts in abattoirs in the Republic of Ireland. **Journal of Applied Microbiology**, v. 105, p. 1209-1219, 2008.

PRICE, L. B.; GRAHAM, J. P.; LACKEY, L. G.; ROESS, A.; VAILES, R.; SILBERGELD, W. Elevated risk of carrying gentamicin-resistant Escherichia coli among U.S. poultry workers. **Environmental Health Perspectives**, v. 115, n. 12, p. 1738-1742, Dec, 2007.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; LEONARD, F. C.; FITZPATRICK, E. S.; FANNING, S.; HARTIGAN, P. J. **Veterinary Microbiology and Microbial Disease**. 2^a ed. Iowa: Wiley-blackwell, 1231 p., 2011.

RAYAMAJHI, N.; CHA, S. B.; KANG, M. L.; LEE, S. I.; LEE, H. S.; YOO, H. S. Inter-and intraspecies plasmid-mediated transfer of florfenicol resistance in

Enterobacteriaceae isolates from swine. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 75, n. 17, p. 5700-5703, Sep, 2009.

REISSBRODT, R. New chromogenic plating media for detection and enumeration of pathogenic *Listeria* spp. - an overview. **International Journal of Food Microbiology**, v. 95, p. 1-9, 2004.

RIBEIRO, A. R.; KELLERMANN, A.; SANTOS, L. R.; FITTEL, A. P.; NASCIMENTO, V. P. Resistência antimicrobiana em *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorovar Hadar isoladas de carcaças de frango. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 73, n. 3, p. 357-360, Jul/Set, 2006.

ROCOURT, J.; ESPAZE, E. P.; MINCK, R.; HUBERT, B.; COURTIEU, A. L. Cluster of listeriosis isolates with different serovar and phagovar characteristics. **Lancet**, v. 2, p. 1217-1218, Nov, 1989.

ROSTAGNO, M.; HURD, S.; MCJEAN, J. D. Split Marketing as a Risk Factor for *Salmonella enterica* Infection in Swine. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 6, n. 7, p. 865-869, 2009.

RUBY, J. R.; INGHAM, S. C. Use of Enterobacteriaceae analysis results for predicting absence of *Salmonella* serovars on beef carcasses. **Journal of Food Protection**, v. 72, n. 2, p. 260-266, 2009.

SABRÁ, A. ECEP, ECET, ECEA, ECEH, ECEI, ECAD: *E. coli* revisitada no contexto da diarreia aguda. **Jornal de Pediatria**, v. 77, n. 1, p. 5-7, 2002.

SANTOS, R. L.; RAFFATELLU, M.; BEVINS, C. L.; ADAMS, L. G.; TÜKEL, Ç.; TSOLIS, R. N.; BÄUMLER, A. J. Life in the inflamed intestine, *Salmonella* style. **Trends in Microbiology**, v. 17, n. 11, p. 498-506, 2009.

SCALLAN, E.; HOEKSTRA, R. M.; ÂNGULO, F. J.; TAUXE, R. V.; WIDDOWSON, M. A.; ROY, S. L. Foodborne illness acquired in the United States - major pathogens. **Emerging Infectious Diseases**, Jan, 2011.

SCHMIDT, V.; GOTTARDI, C. P. T.; CARDOSO, M. Resistência a antimicrobianos de amostras de *Escherichia coli* isoladas em estação de tratamento de dejetos de suínos In: **I Congresso Latino americano de Suinocultura, 2002**, Foz do Iguaçu. Anais, v. 1, p. 27-28, 2002.

SCHRÖER, U.; KASPAR, H.; WALLMANN, J. Quantitative resistance level (MIC) of *Escherichia coli* isolated from calves and pigs suffering from enteritis: national resistance monitoring by the BVL. **Berl Munch Tierarztl Wochenschr**, v. 120, n. 9-10, p. 431-441, Sep/Oct, 2007.

SCHWARZ, S.; CHASLUS-DANCLA, E. Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. **Veterinary Research**, v. 32, p. 201-225, 2001.

SCHWARZ, S.; KEHRENBURG, C.; DOUBLET, B.; CLOECKAERT, A. Molecular basis of bacterial resistance to chloramphenicol and florfenicol. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 28, p. 519-542, 2004.

SCHWARZ, S.; CLOECKAERT, A.; ROBERTS, M.C. Mechanisms and spread of bacterial resistance to antimicrobial agents. In: AARESTRUP, F. M. **Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin**. Washington D.C.: ASM Press, p. 73-98, 2006.

SCHWARZ, P.; CALVEIRA, J.; BESSA, M.; BARCELLOS, D.; CARDOSO, M. Salmonella enterica: isolamento e soroprevalência em suínos abatidos no Rio Grande do Sul. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, p. 1028-1034, 2009.

SCHWARZ, S.; SILLEY, P.; SIMJEE, S.; WOODFORDS, N.; VAN DUIJKERRENE, E.; JOHSON, A.P.; GAASTRAS, W. Assessing the susceptibility of bacteria obtained from animals. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 65, p. 601-604, 2010.

SEIXAS, F. N.; TOCHETTO, R.; FERRAZ, S. M. Presença de Salmonella sp. em carcaças suínas amostradas em diferentes pontos da linha de processamento. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 2, p. 634-640, 2009.

SHNEIDER, R. N.; NADVORNY, A.; SCHMIDT, V. Perfil de resistência antimicrobiana de isolados de Escherichia coli obtidos de águas superficiais e subterrâneas, em área de produção de suínos. **Biotemas**, v. 22, n.3, p. 11-17, 2009.

SILVA, M. C. D.; VILARDI, T. C. C.; TIBANA, A. Avaliação de Métodos Para a Detecção de Listeria em Queijos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n. 2, p. 28-54, 1998.

SILVA, J. A.; SILVA, W. D. Escherichia coli enteropatogênica (EPEC), ao contrário da Escherichia coli comensal, adere, sinaliza e lesa enterócitos. **Revista de Patologia Tropical**, v. 34, n. 3, p. 175-196, 2006.

SILVA, F. F. P.; SANTOS, M. A. A.; SCHMIDT, V. Resistência a antimicrobianos de Escherichia coli isolada de dejetos suínos em esterqueiras. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 3, p. 762-765, 2008.

SILVA, M. C.; FARIA, G. S.; PAULA, D. A. J.; MARTINS, R. P.; CARAMORI-JUNIOR, J. G.; KICH, J. D.; COLODEL, E. M.; NAKAZOTO, L.; DUTRA, V. Prevalência de Salmonella sp. em suínos abatidos no Estado de Mato Grosso. **Ciência Rural**, v. 39, n. 1, p. 266-268, 2009.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de Métodos de Análises Microbiológicas de Alimentos e Água**. 4ª ed. São Paulo: Varela. 2010.

SILVA, L. E. **Determinação de fontes de contaminação e vias de disseminação de Salmonella sp. em linhas de abate de suínos no Sul do Brasil**. Programa De Pós-Graduação Em Ciências Veterinárias, UFRGS. Tese, 93p., 2011.

SKOVGAARD, N.; NORRUNG, B. The incidence of *Listeria* spp in feces of Danish pigs and in minced pork meat. **International Journal of Food Microbiology**, v. 59, n. 8, 1989.

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

SØRENSEN, L. L.; WACHMANN, H.; ALBAN, L. Estimation of *Salmonella* prevalence on individual-level based upon pooled swab samples from swine carcasses. **Veterinary Microbiology**, v. 119, p. 213-220, 2007.

SOUZA, M.V.N. New fluoroquinolones: A class of potent antibiotics. **Minireviews in Medicinal Chemistry**, v.5, p.1019-1017, 2005.

STRAW, B. E.; DEWEY, C. E.; WILSON, M. R. Differential diagnosis of disease. In: STRAW, B. E.; ZIMMERMAN, J. J.; D'ALLAIRE, S.; TAYLOR, D. J. **Disease of swine**. 9^a edition, Cap. 11, 275-283, 2006.

SVS. Dados epidemiológicos – DTA período de 2000 a 2011. **Secretaria de Vigilância em Saúde – SVS**. Disponível em: www.saude.gov.br/svs. 2011

SWANENBURG, M.; VAN DER WOLF, P. J.; URLINGS, H. A.; SNIJDERS, J. M.; VAN KNAPEN, F. *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, Nov, 2001.

TANG, X.; TAN, C.; ZHANG, X.; ZHAO, Z.; XIA, X.; WU, B.; GUO, A.; ZHOU, R.; CHEN, H. Antimicrobial resistances of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolates from swine in China. **Microbial Pathogenesis**, v. 50, n. 5, p. 207-212, May, 2011.

TEUNIS, P. F. M.; KASUGA, F.; FAZIL, A.; OGDEN, I. D.; ROTARIU, O.; STRACHAN, N. J. C. Dose-response modeling of *Salmonella* using outbreak data. **International Journal of Food Microbiology**, v. 144, p. 243-249, 2010.

THEVENOT, D.; DERBURG, A.; VERNOZY-ROZAND, C. An update review of *Listeria monocytogenes* in the pork meat industry and its products. **Journal of Applied Microbiology** v. 101, p. 7-17, 2006.

THORSTEINSDOTTIR, T. R.; HARALDSSON, G.; FRIDRIKSDOTTIR, V.; KRISTINSSON, K. G.; GUNNARSSON, E. Prevalence and genetic relatedness of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* isolated from animals, foods and humans in Iceland. **Zoonoses and Public Health**, v. 57, p. 189-196, 2010.

TIAN, G. B.; WANG, H. N.; ZOU, L. K.; TANG, J. N.; ZHAO, Y. W.; YE, J. Y.; TANG, J. Y.; ZHANG, Y.; ZHANG, A. Y.; YANG, X.; XU, C. W.; FU, Y. J. Detection of CTX-M-15, CTX-M-22, and SHV-2 extended-spectrum beta lactamases (ESBLs) in *Escherichia coli* fecal-sample isolates from pig farms in China. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 6, n. 3, p. 297-304, Apr, 2009.

TOMA, B.; DUFOUR, B.; SANAA, M.; BENETM J. J.; MOUTOU, F.; LOUZA, A.; ELLIS, P. **Applied Veterinary Epidemiology**, AEEMA, 1999.

TROBOS, M.; LESTER, C. H.; OLSEN, J. E.; FRIMODT-MOLLER, N.; HAMMERUM, A. M. Natural transfer of sulphonamide and ampicillin resistance between *Escherichia coli* residing in the human intestine. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 63, p. 80-86, 2009.

VAN DEN BELD, M. J.; REUBSAET, F. A. Differentiation between *Shigella*, enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC) and noninvasive *Escherichia coli*. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, Sep, 2011.

VAN DEN BOGAARD, A. E.; BRUISMA, N.; STOBBERINGH, E. E. The effect of banning avoparcin on VRE carriage in The Netherlands. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 46, p. 146-48, 2000.

VAN HOEK, A. H. A. M.; JONGE, R.; VAN OVERBEEK, W. M.; BOUW, E.; PIELAAT, A.; SMID, J. H.; MALORNY, B.; JUNKER, E.; LÖFSTRÖM, C.; PEDERSEN, K.; AARTS, H. J. M.; HERES, L. A quantitative approach towards a better understanding of the dynamics of *Salmonella* spp. in a pork slaughterline. **International Journal of Food Microbiology**, v. 153, p. 45-52, 2012.

VANNUCCI, F. A.; GUEDES, R. M. C. Fisiopatologia das diarreias em suínos. **Ciência Rural**, v. 39, n. 7, p. 2233-2242, 2009.

VÁSQUEZ-BOLAND, J. A.; KUHN, M.; BERCHE, P.; CHAKRABORTY, T.; DOMÍNGUEZ-BERNAI, G.; GOEBEL, W.; GONZÁLEZ-ZORN, B.; WEHLAND, J.; KREFT, J. *Listeria*: pathogenesis and molecular virulence determinants. **Clinical Microbiology Reviews**. v. 14, Jul, 2001.

VIEIRA-PINTO, M.; TEMUDO, P.; MARTINS, C. Occurrence of *Salmonella* in the ileum, ileocolic lymph nodes, tonsils, mandibular lymph nodes and carcasses of pigs slaughtered for consumption. **Journal of Veterinary Medicine B**, v. 52, p. 476-481, 2005.

VITAS, A. I.; AGUADO, V.; GARCIA-JALON, V. A. Occurrence of *L. monocytogenes* in fresh and processed foods in Navarra (Spain). **International Journal of Food Microbiology**, v. 90, n. 3, p. 349-356, 2004.

WAGNER, M.; MCLAUCHLIN, J. Biology. In: LIU, D. **Handbook of Listeria**. p. 3-20, CRC Press, Taylor & Francis Group, 2008.

WALKER, J. K.; MORGAN, J. H.; MCLAUCHLIN, J.; GRANT, K.; SHALLCROSS, J. A. *Listeria innocua* isolated from a case of ovine meningoencephalitis. **Veterinary Microbiology**, v. 42, p. 245-253, 1994.

WANG, X. M.; JIANG, H. X.; LIAO, X. P.; LIU, J. H.; ZHANG, W. J.; ZHANG, H.; JIANG, Z. G.; LÜ, D. H.; XIANG, R.; LIU, Y. H. Antimicrobial resistance, virulence genes, and phylogenetic background in *Escherichia coli* isolates from diseased pigs. **FEMS Microbiology Letters**, v. 306, n. 1, p. 15-21, May, 2010.

WEDEL, S. D.; BENDER, J. B.; LEANO, F. T.; BOXRUD, D. J.; HEDBERG, C.; SMITH, K. E. Predominance of clinical isolates of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Typhimurium from humans and animals in Minnesota in the same two clonal groups. **Emerging Infectious Disease**, v. 12, p. 1899-1906, 2005.

WESLEY, I. V.; LARSEN, S.; HURD, H. S.; MCKEAN, J. D.; GRIFFITH, R.; RIVERA, F.; NANNAPANENI, R.; COX, M.; JOHNSON, M.; WAGNER, D.; MARTINO, M. Low Prevalence of *Listeria monocytogenes* in cull sows and pork. **Journal of Food Protection**, v. 71, n. 3, p. 545-549, 2008.

WU, S.; DALSGAARD, A.; VIEIRA, A. R.; EMBORG, H. D.; JENSEN, L. B. Prevalence of tetracycline resistance and genotypic analysis of populations of *Escherichia coli* from animals, carcasses and cuts processed at a pig slaughterhouse. **International Journal of Food Microbiology**, v. 135, n. 3, p. 254-259, Nov, 2009.

WU, S.; DALSGAARD, A.; HAMMERUM, A. M.; PORSBO, L. J.; JENSEN, L. B. Prevalence and characterization of plasmids carrying sulfonamide resistance genes among *Escherichia coli* from pigs, pig carcasses and human. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 52, p. 30-47, Jul, 2010.

YOKOYAMA, E.; SAITOH, T.; MARUYAMA, S.; KATSUBE, Y. The marked increase of *Listeria monocytogenes* isolation from contents of swine cecum. **Comparative Immunology Microbiology & Infectious Diseases**, v. 28, n. 4, p. 259-268, Jul, 2005.

ZLOTOWSKY, P.; DRIEMEIER, D.; BARCELLOS, D. E. S. N. Patogenia das diarreias dos suínos: modelos e exemplos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 36, supl. 1, p. 81-86, 2008.