

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

**VALIDAÇÃO DE ESTRATÉGIAS A CAMPO PARA O CONTROLE DE
SALMONELLA SP. NA CADEIA DE PRODUÇÃO DE SUÍNOS**

EDUARDO DE FREITAS COSTA

PORTO ALEGRE

2014

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

VALIDAÇÃO DE ESTRATÉGIAS A CAMPO PARA O CONTROLE DE
***SALMONELLA* SP. NA CADEIA DE PRODUÇÃO DE SUÍNOS**

Autor: Eduardo de Freitas Costa*

**Dissertação apresentada como requisito
para obtenção de grau de Mestre em
Ciências Veterinárias, Especialidade
Epidemiologia, Saneamento e Profilaxia.**

Orientador: Dr. Luís Gustavo Corbellini

Co-orientadora: Dra. Jalusa Deon Kich

PORTO ALEGRE

2014

***Médico Veterinário**

CIP - Catalogação na Publicação

de Freitas Costa, Eduardo
Validação de estratégias a campo para o controle
de Salmonella sp. na cadeia de produção de suínos /
Eduardo de Freitas Costa. -- 2014.
62 f.

Orientador: Luis Gustavo Corbellini.
Coorientadora: Jalusa Deon Kich.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária,
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias,
Porto Alegre, BR-RS, 2014.

1. Salmonella. 2. Suínos. 3. Controle. 4.
Soroprevalência. 5. Contaminação. I. Corbellini, Luis
Gustavo, orient. II. Deon Kich, Jalusa, coorient.
III. Título.

Eduardo de Freitas Costa

Validação de estratégias a campo para o controle de *Salmonella* sp. na cadeia de produção de suínos

Aprovada em 27 de fevereiro de 2014

APROVADO POR:

Prof. Dr. Luís Gustavo Corbellini
Orientador

Prof. Dra. Jalusa Deon Kich
Co-orientadora e presidente da comissão

Prof. Dra. Débora da Cruz Payão Pellegrini
Membro da Comissão

Prof. Dr. David Emilio Santos Neves de Barcellos
Membro da Comissão

Prof. Dra. Marisa Ribeiro de Itapema Cardoso
Membro da Comissão

À minha família, em especial minha mãe, Angela
(*In memoriam*) e meu pai Renato. Aos meus
irmãos, em especial Nelson. E aos demais que
sempre me deram oportunidades.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que não sonegaram impostos e, de certa forma, permitiram que eu estudasse desde a pré-escola até o mestrado em instituições de ensino públicas e (algumas vezes mais e outras menos) de qualidade.

Aos meus orientadores Luis Gustavo Corbellini e Jalusa Deon Kich, acima de tudo, pela amizade, bem como pela oportunidade, apoio, ajuda e incentivo ao senso crítico durante todas as etapas do meu mestrado.

A toda família Hoffmann/Mortari pelo carinho com que me recebeu em especial à Fernanda, meu amor e minha amiga.

Aos colegas do laboratório de Medicina Veterinária Preventiva e do Epilab pela amizade, batatas fritas e cervejas.

Aos funcionários da Agroindústria em que foi desenvolvida a etapa de campo da validação, bem como à Boehringer Ingelheim e à Alltech pela oportunidade.

Aos suinocultores que, apesar da rotina densa, se propuseram a participar da validação.

Aos funcionários da Embrapa Suínos e Aves pela inimaginável ajuda que me proporcionaram nas coletas, processamento de amostras de campo e análise de dados.

RESUMO

O Brasil ocupa uma posição de destaque mundial em relação à produção agropecuária, sendo necessário fornecer segurança microbiológica aos consumidores. *Salmonella* é um agente causador de infecções alimentares em seres humanos, de forma que os produtos de origem suína são responsáveis por cerca de 5-10% dos surtos em humanos. O controle depende do conhecimento da distribuição da bactéria desde o rebanho até o frigorífico. Em regiões com altas prevalências no campo, esforços direcionados primeiramente em reduzir a prevalência nos rebanhos visam minimizar os riscos de contaminação dos produtos. Neste sentido, medidas de biossegurança, seguindo boas práticas de produção agropecuária, são fundamentais. Além disso, a aplicação de intervenções complementares são, possivelmente, formas de reduzir a prevalência em um período de tempo mais curto. Desta forma o objetivo deste trabalho foi validar três estratégias: 1) utilização de um prebiótico Actigen®TM na ração dos animais, (PRE); 2) uma vacina viva Enterisol SC 54®, (VAC) e 3) o sistema de *wean-to-finish*, (WTF). Estes grupos foram comparados entre si e com o sistema tradicional em três sítios, o grupo controle (GC), frente à soroprevalência e contaminação em carcaças. Cada estratégia foi realizada em três repetições, sendo colhidas amostras de sangue de 55 animais de cada lote no dia do alojamento na terminação e quatro dias antes do abate. Suabe de 40 carcaças de cada lote foram colhidas antes do resfriamento. As soroprevalências e frequências de isolamento foram comparadas entre os grupos por meio de teste de qui-quadrado. A soroprevalência pré-abate foi estatisticamente menor no grupo PRE 50,3% em relação ao WTF, VAC e GC, com 99%, 96,9% e 98,8% respectivamente. As frequências de isolamentos em superfície de carcaça variaram de 0% a 29,1% nos grupos PRE e VAC respectivamente, sendo que ambas diferem significativamente entre si e dos grupos CG 18,33% e WTF 15% ($p < 0,05$). Pode-se comprovar a eficácia do prebiótico em prevenir a infecção a campo frente às demais estratégias. Em relação às contaminações de carcaças, os resultados corroboram com os conhecimentos acerca do papel da pressão de infecção do campo nas contaminações na planta frigorífica.

Palavras Chave: Salmonella, suínos, soroprevalência, controle

ABSTRACT

Brazil has been increasing its worldwide position in relation to agricultural production, and is necessary providing food safety to consumers. Salmonella is a foodborne pathogen for humans and pork products play an important role in the amount of outbreaks. The control depends on the knowledge of the distribution of the bacteria occurrence from the herd to the slaughterhouse. In regions with high on farm prevalence, efforts are primarily directed to reduce the prevalence in the swine population in order to minimize the risks of products contamination. In this sense, biosecurity measures and good production practices are useful. Moreover, increase the knowledge about additional interventions, to reduce on farms prevalence in a shorter period of time, also is important. Therefore, the objective of this work was to validate three strategies: 1) use of Actigen ®™ prebiotic in animal feed, (PRE); 2) a live vaccine Enterisol SC54® (VAC); and 3) the system of wean- to-finish, (WTF). Seroprevalence and contamination on carcasses surface in these groups were compared with the traditional system in three sites (the control group-CG). Each strategy was performed in three replicates, and blood samples were collected from 55 animals of each batch at the first day of finishing phase and four days before slaughter. Swabs of 40 carcasses were taken from each batch before chilling. The seroprevalence and isolation frequencies were compared between groups using logistic regression. The seroprevalence before slaughter was lower in PRE (50.3%) compared with the WTF, VAC and GC groups, with 99%, 96.9% and 98.79%, respectively. The frequency of Salmonella isolation was lower in PRE group 0%, when compared with the other groups ($p < 0.05$). The results prove that prebiotic is able to prevent infection in the field compared to the other strategies. Regarding the carcass contamination, these finds are consistent with the knowledge on the role of infection pressure in the field contamination in the plant.

Key words: Salmonella, pigs, seroprevalence, control

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Estrutura básica de cada lote acompanhado do nascimento ao abate . 27**
- Figura 2 – Soroprevalências ao alojamento e pré-abate de cada tratamento validado 38**
- Figura 3 – Distribuição de densidades ópticas dos animais em cada tratamento no momento do alojamento, média e desvio padrão 39**
- Figura 4 – Distribuição de densidades ópticas dos animais em cada tratamento antes do abate, média e desvio padrão 39**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Quantidade de prebiótico incluído na ração destinada à alimentação dos animais do grupo PRE em cada período de idade.....	29
Tabela 2 – Número de amostras colhidas ao longo da validação em cada local de colheita	33
Tabela 3 – Pesquisa bacteriológica de <i>Salmonella</i> nos diferentes ambientes de alojamento e transporte dos 11 lotes avaliados durante a validação	37
Tabela 4 – Prevalência (positivos/total) para <i>Salmonella</i> em amostras de sangue e carcaças em cada grupo nas diferentes colheitas	40

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1 Gênero <i>Salmonella</i>	13
2.2 Salmonelose no homem.....	15
2.3 Salmonelose no suíno	17
2.4 Relação do campo com a indústria	19
2.5 Medidas de controle nas granjas	21
3 METODOLOGIA	26
3.1 Características de manejo	26
3.2 Delineamento do estudo.....	27
3.2.1 Grupo controle (GC).....	28
3.2.2 Grupo vacina (VAC)	28
3.2.3 Grupo prebiótico (PRE)	29
3.2.4 Grupo <i>wean-to-finish</i> (WTF).....	29
3.3 Colheitas de material biológico	29
3.3.1 Ambiente das granjas	30
3.3.2 Caminhões.....	30
3.3.3 Sangue e fezes	31
3.3.4 Ração	31
3.3.5 Baia de espera.....	32
3.3.6 Carcaças	32
3.3.7 Animais contemporâneos.....	32
3.3.8 Resumo das atividades de colheita	33
3.4 Procedimentos laboratoriais	33
3.4.1 Isolamento e identificação de <i>Salmonella</i> sp.	33
3.4.2 Detecção de anticorpos anti- <i>Salmonella</i> sp.	34
3.5 Análise de dados	35
4 RESULTADOS	37
5 DISCUSSÃO	41
6 CONCLUSÕES	48
REFERÊNCIAS	49
ANEXO I	60
ANEXO II	62

1 INTRODUÇÃO

A pecuária brasileira se destaca como uma das mais importantes no mundo, tendo um dos maiores rebanhos de bovinos de leite, corte, aves e suínos. O censo agropecuário de 2012 mostrou que 49,5% dos mais de 38 milhões de suínos do rebanho nacional estavam na região Sul do país, sendo que o Estado de Santa Catarina possuía o maior rebanho, com aproximadamente 7,4 milhões de animais (IBGE, 2012). Quanto aos produtos de origem animal, registraram-se aumentos na produção no ano de 2011 em comparação a 2010 (IBGE, 2011). A produção de carne suína tem um crescimento projetado de 1,9% ao ano, atendendo assim ao consumo doméstico e às exportações. Essas taxas correspondem ao acréscimo de 20,6% na produção de carne suína, entre 2013 e 2023 (BRASIL, 2013).

Além do volume de produção, deve ser mantida a preocupação com a saúde pública e o comércio internacional, uma vez que as relações comerciais de produtos de origem animal sofrem forte influência das medidas regulatórias das agências de vigilância e da opinião pública. Por meio de acordos como o Acordo Sanitário e Fitossanitário (SPS), a Organização Mundial de Comércio (OMC) regulamenta as bases sobre segurança dos alimentos e padrões em saúde animal e vegetal (OMC, 1995), sendo a inocuidade dos alimentos um aspecto notório neste acordo.

Dentre os micro-organismos patogênicos ao ser humano e associados à suinocultura está *Salmonella*. Segundo o Ministério da Saúde (MS) *Salmonella* foi a bactéria mais comumente envolvida em surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) durante os anos de 2000 a 2011 no Brasil (BRASIL, 2011a). Nos Estados Unidos da América, o Centro de Controle de Doenças (CDC), estima que *Salmonella* seja responsável por 11% das infecções alimentares, e 35% das hospitalizações resultantes dessas. Ainda, atribui-se à *Salmonella* 28% das mortes em casos de toxinfecções alimentares (CDC, 2011). De acordo com um estudo conduzido com base nos dados de notificações de surtos ocorridos na Europa, durante os anos de 2005 e 2006, a participação da carne suína em casos de salmonelose humana foi estimada em cerca de 10% (PIRES et al., 2010).

A ligação entre a produção primária e a segurança dos alimentos remete a conceitos como *farm-to-table* (da fazenda à mesa). Este conceito resgata, além da integração entre as diferentes etapas da produção de alimentos, um entendimento da necessidade de qualidade e medidas de ação no campo para o controle da qualidade do

produto final. Desta forma, integrando a saúde e bem estar animal por meio de regulamentações e medidas de vigilância agropecuária visando à proteção da saúde humana e dos mercados (EFSA, 2013).

O controle econômico e efetivo de *Salmonella* na cadeia de produção de suínos depende necessariamente do conhecimento da distribuição de ocorrência do patógeno desde a produção primária até o frigorífico, e o foco de atuação necessita de informações de cada etapa do processo (ALBAN e STÄRK, 2005). Em países como a Dinamarca, o programa de controle teve início em 1995. O elemento chave se baseou na correta identificação e classificação dos rebanhos quanto à prevalência, para o consequente controle a campo, logística de entrega de animais ao abate e medidas específicas de controle no frigorífico. Desta forma é considerado um programa integrado entre o campo e a indústria (ALBAN et al., 2002).

No Brasil, especificamente no sul do país, estima-se que as prevalências de animais soropositivos ou excretando a bactéria em nível de campo ou ao abate sejam altas (BESSA et al., 2004; SILVA et al., 2006). Neste sentido, estudos vêm sendo desenvolvidos no intuito de melhor entender a epidemiologia de *Salmonella* nos diferentes elos do sistema de produção. Müller et al. (2009) e Schwarz et al. (2009) descrevem que o período de terminação é crítico para a amplificação da contaminação e infecção. Castagna et al. (2004) concluem em seu trabalho que a presença da bactéria no intestino do animal é fator de risco para a contaminação da carcaça e de produtos embutidos e Kich et al. (2011) encontraram correlação entre isolados (pulsotipos) de fezes, piso das baias, linfonodos e carcaças.

Os esforços dirigidos no intuito de reduzir a prevalência nos animais, controlar a infecção e disseminação no campo passam desde correção de fatores de risco e adoção de medidas higiênico-sanitárias rígidas em fábricas de rações, granjas e frigoríficos. Estratégias adicionais são de interesse, uma vez que podem ser alternativas de auxílio às boas práticas de produção, tornando menor o tempo até a diminuição da prevalência.

Trabalhos realizados em parceria entre a Embrapa Suínos e Aves e o Setor de Medicina Veterinária Preventiva da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) têm o intuito de proporcionar conhecimento, e propor medidas ao controle da *Salmonella*. Desta forma, este trabalho teve como objetivo validar a utilização de prebiótico, vacina viva e sistema *wean-to-finish* comparados ao controle (sistema básico de boas práticas de produção) como estratégias adicionais ao controle de *Salmonella* nas etapas de criação de suínos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Gênero *Salmonella*

Salmonella pertence à família das *Enterobacteriaceae*, é um cocobacilo Gram-negativo, não esporulado, móvel por meio de flagelos peritríqueos (com poucas exceções) tendo metabolismo tanto respiratório quanto fermentativo (HOLT et al., 1994). A faixa de crescimento de *Salmonella* ocorre entre 25-43°C, sendo relatada a multiplicação em temperaturas de refrigeração (4-10 °C) e morte em temperaturas acima de 55°C. A faixa de pH suportado varia de 3,6 até 9,5, sendo o valor ótimo para o crescimento próximo a 7,4 (BUNCIC, 2006).

Possui estruturas proteicas denominadas fímbrias, que atuam no sentido de permitir a interação entre a bactéria e as células intestinais do hospedeiro. Embora um número grande de fímbrias seja relacionado à *Salmonella* as fímbrias tipo I foram as primeiras a serem relatadas, sendo as mais comumente relacionadas com a adesão e consequente invasão dos enterócitos (ALTHOUSE et al., 2003).

Existem duas espécies de *Salmonella*: *Salmonella bongori* e *Salmonella enterica* sendo a última dividida nas seguintes subespécies: *S. enterica* subsp. *salamae*, *S. enterica* subsp. *arizonae*, *S. enterica* subsp. *diarizonae*, *S. enterica* subsp. *houtenae*, *S. enterica* subsp. *indica* e *S. enterica* subsp. *enterica*. A subespécie *enterica* está relacionada com 99,5% das cepas isoladas em seres humanos (GRIMONT e WEILL, 2007). *Salmonella enterica* subsp. *enterica* é usualmente dividida em sorovares conforme o esquema de Kauffmann-White, baseado nos antígenos O (somáticos), H (Flagelar) e ocasionalmente capsular (Vi) (QUEEN et al., 1994). Segundo Grimont e Weill (2007) existem um grande número de sorovares.

De acordo com Barrow et al. (2010) a classificação da *Salmonella* pode também ser feita com relação à adaptação ao hospedeiro. Uma forma de classificar seria dividindo em três grupos. O primeiro, chamado hospedeiro específico causa doença septicêmica em um número limitado de hospedeiros filogeneticamente relacionados, caso da *Salmonella* Typhi, Gallinarum e Abortusovis associadas a humanos, frangos e ovinos respectivamente. A segunda classificação, hospedeiro restrito, preferencialmente causa doença septicêmica em uma espécie de hospedeiro, mas pode ocorrer em outras. Neste encontram-se a *Salmonella* Dublin e Choleraesuis mais comumente associadas a ruminantes e suínos. A terceira chamada de ubiqüitária compreendem *Salmonella*

Typhimurium e Enteritidis, por exemplo, e podem causar gastroenterite em um grande número de hospedeiros.

De acordo com Hirsh et al. (2004) a *Salmonella* pode ser considerada uma bactéria de ampla distribuição, tanto do ponto de vista geográfico quanto do ponto de vista zoológico, ou seja, se aceita que os membros do gênero *Salmonella* são encontrados no solo, água, ambientes naturais e fômites, bem como no trato gastrointestinal de mamíferos e aves, tanto domésticos e selvagens, peixes, anfíbios e répteis.

As características de resistência da bactéria no solo, instalações e fômites variam sensivelmente tendo em vista as características do ambiente e da cepa em questão. Em estudo realizado para avaliar o tempo de sobrevivência das bactérias em superfícies de manipulação de alimentos, Libuchi et al. (2010) relatam que cepas formadoras de biofilme sobreviveram com contagens de 10^4 UFC/placa por 175 dias em baldões de polietileno. Nos dejetos, esta bactéria pode sobreviver por 10 a 15 dias, sendo que foi encontrada sobre o solo a distâncias de mais de 100 metros do local de origem dos dejetos. O solo e a matéria orgânica atuam como microambiente e proporcionam condições não só de sobrevivência como de multiplicação à *Salmonella*. Em uma estação de tratamento de esgoto, 100% das amostras encontradas puderam ser reisoladas após um ano no sedimento do tanque de tratamento (WINFRILD e GROSMANN, 2003).

A eficiência de agentes sanitizantes frente a amostras de *S. Typhimurium* foi estudada por Kich et al. (2004). Os autores encontraram que as condições de tempo de exposição ao produto químico e presença de matéria orgânica afetaram a eficiência. Os desinfetantes hipoclorito de sódio (1%) e ácido peracético foram eficazes, independente das condições de matéria orgânica e temperaturas testadas (10 e 30°C). Já os desinfetantes a base de amônia quaternária, hipoclorito de sódio (0,1%), glutaraldeído/cloreto de benzalcônio e iodofor tiveram sua atividade prejudicada na presença de matéria orgânica.

As comparações de concentrações e tempo de contato do grupo quaternário de amônio e iodofor foram avaliadas por Borowsky et al. (2006). Em relação ao composto quaternário de amônio, todas as 96 amostras se mostraram sensíveis nas concentrações recomendadas pelo fabricante, em subconcentração, bem como em tempos de contato diferentes. Foram observadas amostras resistentes às duas concentrações de iodofor estudadas, bem como em diferentes tempos de contato.

2.2 Salmonelose no homem

Exceto os sorovares Typhi e Paratyphi, específicos para o homem, causando a febre tifoide e a febre entérica respectivamente, os demais são chamados de não típicos e considerados zoonoses, causando principalmente enterocolites (ACHA e SZYFRES, 2003). As enterocolites têm sintomas de gravidade variável, de acordo com os diversos mecanismos de virulência e estado imunitário do hospedeiro. De forma geral *Salmonella* é uma bactéria intracelular facultativa, que no processo de infecção atravessa a camada epitelial do intestino, alcançando a lâmina própria, onde se proliferam, são fagocitadas pelos monócitos e macrófagos, resultando em resposta inflamatória, decorrente da hiperatividade do sistema reticuloendotelial/monocítico fagocitário (SHINOHARA et al., 2008).

Acha e Szyfres (2003) relatam que o período de incubação nos casos não típicos varia de 6 a 72 horas, seguida de febre, mialgia, cefaleia, cólicas, náusea, diarreia e vômitos. O curso da doença costuma ser autolimitante levando de dois a quatro dias, sendo que os indivíduos podem permanecer portadores da bactéria por semanas e mais raramente por alguns meses. Exceções são encontradas nos casos dos sorovares Choleraesuis, Sendai e Dublin. Embora os casos sejam raros, estes sorovares podem produzir uma doença septicêmica severa no ser humano. É relatado que no caso da *S. Choleraesuis*, 50% dos indivíduos podem ter bacteremia e cerca de 20% virem a óbito.

Infecções invasivas por *Salmonella* têm sido abordadas como doenças de importância em grupos de pessoas consideradas de risco, como os infectados pelo vírus da HIV, *Plasmodium* (malária), bem como desnutridos, diabéticos e doentes oncológicos (FEASEY, 2012). Vugia et al. (2004) citam, em estudo conduzido com os dados do *Foodborne Diseases Active Surveillance Network* (FoodNet) nos Estados Unidos da América (EUA), que a incidência anual de salmonelose invasiva foi de 0,9 casos/100.000 habitantes expostos durante os anos de 1996 e 1999. Crianças menores de um ano e idosos com mais de 60 foram as faixas etárias com maior incidência anual. Entre os adultos, indivíduos com síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA) tiveram a maior taxa.

Os números de surtos de salmonelose humana ao redor do mundo, especificamente as enterocolites, foram exploradas no estudo de Doyle et al. (2009). Os autores encontraram, entre os anos de 1996 e 2007, diminuição marcada nos surtos de

salmonelose na Europa, diminuição discreta nos EUA e Canadá enquanto que na Austrália houve aumento. De acordo com o CDC, no ano de 2006 aproximadamente 5% dos surtos de salmonelose nos Estados Unidos foram atribuídos ao consumo de carne suína, ao passo que Doyle et al. (2009) citam que somadas carne suína e produtos derivados como salames, presuntos, salsichas e linguças foram responsáveis por cerca de 8% dos surtos em humanos.

No Brasil o serviço de vigilância sanitária das doenças transmitidas por alimentos seguiu, até o ano de 2010, o sistema de Vigilância Epidemiológica das Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar – VEDTHA, baseado na portaria N° 2.325, de 8 de dezembro de 2003 que no seu primeiro parágrafo dizia que:

“a ocorrência de agravo inusitado à saúde, independente de constar da lista de agravos de notificação compulsória deverá também ser notificada imediatamente às Secretarias Municipais e Estaduais de Saúde e ao Ministério da Saúde” (BRASIL, 2003).

No ano de 2011 foi publicada a portaria GM/MS N° 104, de 25 de janeiro de 2011 em que as Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs) passam a ser notificadas como doença de notificação compulsória imediata apenas em surtos ocorridos em aeronaves e embarcações (BRASIL, 2011b).

As informações relativas aos anos de 2000 a 2011 mostram que mais de 40% dos 3927 surtos ocorridos, e com o agente identificado, no país foram atribuídos à *Salmonella*. A participação de carne suína, denominada como *carne suína in natura, processados e miúdos* esteve presente em aproximadamente 5% dos 3487 surtos em que foi possível identificar o alimento responsável (BRASIL, 2011a). Embora as informações sejam originadas do sistema de vigilância, acredita-se que uma grande parte dos casos não seja notificada. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), apesar dos surtos de salmonelose chamarem atenção da mídia, 60 a 80% dos casos ocorrem de forma esporádica, sendo desta forma subnotificados ao sistema (WHO, 2013).

2.3 Salmonelose no suíno

No sistema intensivo de produção de suínos, a salmonelose pode ter dois enfoques: os casos clínicos de enterites e septicemia aguda, causados pelos sorovares Typhimurium e Choleraesuis, respectivamente; e ao estado de portador/excretor assintomático relativo aos sorovares do grupo ubiquitário, que são considerados importantes fontes de contaminações de carcaças. A apresentação clínica relacionada ao sorovar Typhimurium é de diarreia, febre e desidratação, levando, conseqüentemente, à perdas sensíveis de produtividade. Infecções septicêmicas por *S. Choleraesuis* podem resultar em morte súbita, entretanto o mais comum é os animais apresentarem letargia, tosse, dispneia e febre alta. Algumas vezes pode haver envolvimento nervoso e reprodutivo (aborto). No exame físico os animais apresentam orelhas, cauda, nariz, pés e abdômen cianóticos, sendo comum a morte em poucos dias. Os animais que sobrevivem desenvolvem diarreia cerca de quatro dias após o início da sintomatologia, e conseqüentemente, definhamento (GRIFFITH et al., 2006).

De forma geral, a transmissão do animal se dá pela via fecal-oral, sendo que a bactéria pode ser recuperada no intestino minutos após a exposição oral (HURD et al., 2001). Depois de ingerida pelo suíno, a bactéria passa por barreiras naturais como o pH estomacal, aumento da temperatura, baixa tensão de oxigênio e alta osmolaridade (OCHOA e RODRÍGUEZ, 2005). Uma vez no intestino, *Salmonella* utiliza de adesinas fimbriais para ligar-se às células intestinais. Após, a bactéria inicia a invasão das células do ápice das vilosidades e das células M, multiplicando-se no sistema monocítico-fagocitário do hospedeiro, podendo alcançar linfonodos, ou ganhar as vias linfáticas e ou hematógenas, gerando infecção sistêmica (GRIFFITH et al., 2006). Embora a IgA de mucosa tenha a capacidade de atuar na defesa intestinal da mucosa frente à aderência de *Salmonella*, a principal resposta do hospedeiro frente à bactéria é celular. Os fagócitos irão desempenhar a primeira e mais importante linha de defesa imunológica contra a bactéria, atuando no intuito tanto de eliminá-la, quanto de apresentar antígenos para síntese de citocinas pró-inflamatórias, mantendo, desta forma, a resposta ao agente (HOLT, 2000).

Em um estudo experimental conduzido por Côté et al. (2004) animais foram inoculados com cinco ml de inóculo na concentração de $2,7 \times 10^{10}$ UFC/ml de *S. Typhimurium*, seguidos de coleta de fezes e necropsia nos dias 0,5, 1, 2, 3, 5, 7, 10 e 14

após inoculação. *Salmonella* foi isolada das fezes durante todas as coletas, ou seja, 12 horas até 14 dias após a inoculação os animais excretavam a bactéria. O isolamento bacteriológico dos tecidos revelou que a bactéria pode ser isolada em todas as coletas de linfonodos mesentéricos, ao passo que a frequência diminui considerando linfonodos cervicais e ilíacos, chegando nestes a 0% no dia 14.

A relação de soroconversão e isolamento a partir de fezes foram exploradas anteriormente no trabalho de Nielsen et al. 1995. Os animais foram inoculados com *S. Typhimurium* e acompanhados por coletas de fezes e sangue por 18 semanas. Foram observados aumento nos valores de densidades ópticas (DO) entre 10 a 20 dias após inoculação. A excreção nas fezes diminuiu com o passar do tempo, sendo que a frequência de isolamento no primeiro dia após a inoculação foi próxima a 100%. Com o passar dos dias houve um declínio na frequência de excreção, entretanto, um declínio marcante ocorreu após os 20 dias de inoculação, ficando com valores abaixo de 10% após 60 dias.

Em um estudo longitudinal, realizado em três rebanhos naturalmente infectados, na Dinamarca, Kranker et al. (2003) acompanharam rebanhos desde o nascimento até o abate por meio de coletas de sangue e fezes. Os animais desmamados tiveram 0% de prevalência no isolamento e na sorologia. O pico de excreção fecal ocorreu na creche, em torno de nove semanas de vida durando em termos médios entre 18 a 26 dias. A soroconversão foi observada após 30 dias, sendo seu pico atingido com cerca de 17 semanas de vida, no meio do período de terminação. Ainda, sobre o perfil de infecção, a excreção de *Salmonella* nos rebanhos pode variar bastante, sugerindo que dentro do mesmo rebanho ocorrem sucessivos ciclos de excreção ou reinfeção (RAJIC et al., 2005).

No Brasil, um estudo conduzido em rebanhos comerciais previamente identificados com *Salmonella enterica*, acompanhou a sorologia, bacteriologia de fezes e linfonodos mesentéricos de sete cortes de animais. As colheitas de sangue foram realizadas nas porcas, leitões de 1-3 dias, aos 21 dias (desmame), 21 dias após alojamento na creche e ao abate. Os resultados mostraram que 100% das porcas e 80% dos leitões de 1-3 dias foram soropositivos. Ao desmame cerca de 8% dos leitões era soropositivo e após 21 dias na creche a prevalência foi 0%. Ao abate a soroprevalência alcançou o valor de 88,42%. Os resultados de isolamento em fezes e linfonodos mostraram que, ao desmame, cerca de 6% dos animais excretava a bactéria, ao passo que aos 21 dias de creche 0% a excretavam. No alojamento nas granjas de terminação

49% dos animais estavam excretando *Salmonella*, sendo que ao abate 77% dos linfonodos mesentéricos foram positivos (SCHWARZ et al., 2006).

Demais estudos longitudinais a campo no Brasil sugerem que os animais entram na terminação com frequências de soroprevalência abaixo de 5%, sendo que ao fim do período praticamente 100% dos animais apresentam-se soropositivos (KICH et al., 2011; SILVA et al., 2006). Estudos utilizando coletas de fezes ou conteúdo do ceco revelam que animais ao abate podem voltar ao status de excreção. Fatores como estresse de jejum, transporte, manipulação, mudança de ambiente e reagrupamento social são tidos como determinantes para a reativação do estado de excretor (HURD et al., 2002; ROSTAGNO et al., 2009).

2.4 Relação do campo com a indústria

O conceito de integração entre os elos e diferentes atores da cadeia produtiva considerando desde a produção no campo até o produto, conhecido em inglês como *farm-to-table*, ou em português, da fazenda a mesa, diz respeito a uma série de práticas aplicadas tanto em nível de campo, quanto de processamento, armazenamento e educação dos consumidores com o intuito de fornecer alimento com segurança. Este conceito é cada vez mais empregado nos sistemas de produção e tem sido amplamente explorado no controle de contaminação da carne e produtos de origem suína por *Salmonella* (EFSA, 2013).

Estudos desenvolvidos com o objetivo de estimar fatores que influenciam a prevalência de carcaças encontraram associação entre o status do animal no campo e a contaminação em carcaças. Berends et al. (1996) mostram que animais positivos para *Salmonella* no campo tiveram de 3-4 vezes mais chances de terem a carcaça contaminada e que cerca de 30% das contaminações de carcaças se dão por contaminação cruzada. Dentro da planta frigorífica, fatores como procedimentos incorretos de evisceração aumentam a chance de contaminação da carcaça em 11 vezes, e a deficiência de limpeza dos equipamentos aumenta em seis vezes a chance de contaminação.

Correlação positiva entre a contaminação de carcaça e o status dos animais abatidos foi encontrada por Botteldoorn et al. (2003). Neste estudo os autores estimam que a entrada de animais positivos seja responsável por cerca de 70% das contaminações de carcaça, e que aproximadamente 30%, resultado de contaminação

cruzada. Baptista et al. (2010) avaliaram múltiplos fatores que influenciaram a prevalência de carcaças positivas em um grande número de frigoríficos por um longo período de tempo. Desta forma, o estudo foi capaz de levar em conta os efeitos de variação da planta frigorífica bem como do dia da semana sobre a prevalência de carcaças contaminadas. Os resultados mostraram que independentemente do frigorífico, se o número de suínos soropositivos for mantido abaixo de 50 por dia, a prevalência de carcaças ficará, em média, abaixo 3%. Ainda, o dia da semana pareceu como influente, sendo que aos finais de semana (sexta-feira e sábado) há maior chance de contaminação de carcaças em comparação aos demais dias. Não foi observado efeito de aumento da chance de contaminação ao decorrer dos dias da semana (segunda a quinta-feira). A discussão sobre a influência do dia da semana pautou dois aspectos, a deficiência na higienização da planta frigorífica principalmente em finais de semana, e o fato de que lotes com maiores prevalências são abatidos nestes dias.

Alguns países da Europa desenvolveram programas de controle de *Salmonella* em suínos, baseados na relação entre a inocuidade dos alimentos e a produção animal, sendo o mais conhecido o dinamarquês (MERLE et al., 2011). O país em questão registrava altas taxas de salmonelose humana, chegando a 82,3 casos a cada 100.000 habitantes no ano de 1994. Após um surto de enterocolite, causado por *S. Infantis*, ter sido investigado e atribuído ao consumo de carne suína advinda de um frigorífico, no ano seguinte, as autoridades dinamarquesas iniciaram o programa nacional de controle de *Samonella* sp. em suínos (MOUSING et al., 1997).

O programa estabelecido na Dinamarca é digno de nota e tem como objetivo primário reduzir o risco de contaminação de carne suína por *Salmonella*. Para tanto, têm sido adotadas medidas em duas frentes, monitoramento sorológico e bacteriológico dos rebanhos e o monitoramento bacteriológico das carcaças. Os rebanhos são submetidos a testes mensais de sorologia de suco de carne e então classificados em níveis baseado na proporção de animais positivos durante o período de três meses. Rebanhos com prevalências <40% são classificados em nível um, com prevalências entre 40-70% no nível dois e com prevalências >70% no nível três (ALBAN et al., 2002).

As medidas de controle são específicas para cada nível de prevalência. Rebanhos classificados no nível três, considerados de alto risco, são abatidos separadamente, em frigorífico específico no final da jornada de abate. Para evitar a contaminação cruzada, não é realizada a separação da cabeça e as carcaças passam por tratamento térmico antes do resfriamento. São pesquisadas amostras de fezes oriundas

das baias de espera que recebem os lotes dos rebanhos níveis dois e três para conhecer os sorovares de *Salmonella* existentes. As mesmas granjas (níveis dois e três) são encorajadas a reduzir a prevalência por meio de medidas de higiene e manejo. Ainda é aplicada uma penalidade financeira de 2-4% no valor pago aos produtores dos níveis dois e três (WEGENER et al., 2003).

Considerando toda a cadeia de produção de carne suína, a possibilidade de atuação no controle das contaminações por *Salmonella* é bastante ampla. Desta forma, os gestores do processo gostariam de ter a resposta para a seguinte pergunta: onde devemos concentrar os esforços para alcançar nossa meta de redução de contaminações?

Um estudo conduzido por Van Der Gag et al. (1999) mostrou que as medidas adotadas no campo são as mais importantes na redução da *Salmonella* na carne suína, entretanto todas as etapas de produção contribuem para redução final. Alban e Stärk (2005) encontraram, por meio de simulação estocástica, que na realidade dinamarquesa, após dez anos de programa de controle, o número de rebanhos com alta prevalência entrando no abate, eficiência da flambagem, contaminações diretas e cruzadas na evisceração e contaminação cruzada na manipulação são, em ordem decrescente, as etapas que mais influenciam a prevalência de carcaças positivas. Os autores também discutem que atuar em fatores isolados tem efeito limitado, sendo que todas as etapas devem ser consideradas, bem como as singularidades de cada sistema de produção devem ser incluídas no modelo.

2.5 Medidas de controle nas granjas

As medidas destinadas ao controle de uma determinada doença ou condição, como as contaminações de carcaça, devem ser observadas como medidas estratégicas adotadas com base na situação epidemiológica de um determinado compartimento, seja ele um país, estado ou até mesmo uma empresa (DOHERR e AUDIGÉ, 2001).

Em relação à contaminação de carcaças suínas por *Salmonella*, em realidades nas quais um grande número de rebanhos com alta soroprevalência é remetido ao abate, as medidas de controle nas granjas assumem importante papel na diminuição da probabilidade de contaminações de carcaças (ALBAN e STÄRK, 2005). No Brasil, estudos realizados, principalmente, em sistemas de integração do sul do país apontam tanto altos valores de soroprevalências quanto altas prevalências de suínos portadores ao

abate (BESSA et al., 2004; MÜLLER et al., 2009; SCHWARZ et al., 2009; SILVA et al., 2006).

A adoção de medidas baseadas nas boas práticas de produção agropecuária, corrigindo fatores de risco é de grande importância. Essas medidas no campo envolvem um grande número de fatores, sendo que alguns deles dizem respeito à estrutura de produção (LO FO WONG et al., 2002). As opiniões de 36 especialistas de 11 países, em relação aos principais fatores de risco a serem corrigidos nas granjas para minimizar as contaminações de carcaças suínas com *Salmonella*, foram colhidas em uma conferência internacional. Embora questões como entrada de animais infectados, higiene da granja e sistema todos dentro todos fora tenham sido consideradas fundamentais pela maioria, os resultados mostram diferenças nas percepções de pesquisadores norte americanos e dinamarqueses acerca dos pontos importantes para o controle, refletindo a importância das particularidades da estrutura de cada cadeia de produção (STÄRK et al., 2002).

A Embrapa Suínos e Aves publicou em 2006 as diretrizes das boas praticas de produção (BPP) em suinocultura, enfatizando as BPP relacionadas ao suíno como portador de agentes contaminantes, entre eles *Salmonella*. O documento em questão chama a atenção para diferentes pontos desde o planejamento dos prédios das granjas, projeto ambiental, projeto técnico, planejamento de produção, documentação do fluxo de funcionários, insumos e produtos. A biossegurança foi contemplada com orientações para o isolamento da granja em relação a outras unidades de produção, implantação de barreira sanitária, controle de visitas, utilização de uniformes, controle do número e da qualidade da origem dos animais, fornecimento de ração e água de qualidade, controle de pragas e manejo sanitário das doenças clínicas. Também está descrito o manejo de ambiência e bem estar, proporcionando qualidade no transporte, adequada densidade animal, luz, renovação de ar, temperatura e baias de recuperação. O documento orienta a higienização e vazios sanitários, sendo que os protocolos e etapas do processo devem ser rigorosamente seguidos, bem como o tempo mínimo entre os lotes deve ser respeitado (EMBRAPA, 2006).

Desta forma, granjas que seguem os princípios de planejamento de produção, gestão ambiental e de biossegurança, podem ser considerados uma alternativa no intuito de baixar a soroprevalência de *Salmonella* no campo. O sistema de *wean-to-finish* (WTF) consiste em granjas projetadas com estrutura para prover biossegurança e ambiente para o desenvolvimento dos leitões desde o desmame até o abate (BRUMM et al., 2002). Este sistema elimina a necessidade de transporte de animais dos sítios de

creche para terminação, evitando que os animais entrem em contato com carrocerias de caminhões contaminados, o estresse do transporte, bem como as interações sociais em consequência da realocação de animais de em uma nova instalação (BRUMM et al., 2002; HESSING;TIELEN, 1994).

Uma avaliação realizada em 1999 nos EUA mostra que animais alojados em sistema WTF apresentaram bons resultados em relação a índices de produção, quando comparados a animais alojados em sistema de três sítios (BRUMM et al., 1999). No Chile, Peralta (2008) cita que o sistema WTF tem sido experimentado desde 1996, sendo utilizado em nível comercial desde 1999. Nesse trabalho, o autor relata que o sistema em questão têm melhores índices zootécnicos e sanitários quando comparado com o sistema de três sítios. Entretanto, o autor chama a atenção que o sistema de integração deve ter um bom controle de estoque, com um número adequado de fêmeas que permita um número baixo de origens nas granjas, bem como a prática do sistema todos dentro todos fora. Embora possam ser encontradas informações acerca de indicadores de produtividade como conversão alimentar, ganho de peso diário e de sanidade como índice de pneumonias e diarreias (BRUMM et al., 1999; FANGMAN et al., 2001; GABARDO et al., 2013), nenhuma informação foi encontrada sobre o efeito do sistema WTF na infecção do rebanho e contaminação de carcaças por *Salmonella*.

Intervenções complementares às boas práticas de produção agropecuária são de interesse para reduzir a prevalência de *Salmonella* em um período de tempo mais rápido (BOYEN et al., 2008). Prebióticos são ingredientes não digestíveis, extraídos da parede do *Saccharomyces cerevisiae* capazes de desempenhar um papel de prebiose, ou seja, estimulam de forma seletiva o desenvolvimento de grupos de micro-organismos, melhorando o perfil da microbiota intestinal (GAGGIÀ et al., 2010). A maioria dos prebióticos são carboidratos, como: fruto-oligosacarídeo (FOS), galacto-oligosacarídeo (GOS), transgalacto-oligosacarídeo (TOS) e o mananoligossacarídeo (MOS) (BAURHOO et al., 2009). O mananoligossacarídeo é um prebiótico composto de mananoproteínas e oligossacarídeos, sendo que a primeira corresponde de 25% a 50% da estrutura da parede da levedura. Acredita-se que a manose contida na mananoproteína é responsável por dois mecanismos de ação fundamentais no controle de bactérias patogênicas: aglutinação das fímbrias tipo I e modulação da resposta imune do hospedeiro (MORAN, 2004).

As lectinas manose-específicas nas fímbrias tipo I das bactérias reconhecem as glicoproteínas dos enterócitos, ricas em manose, proporcionando a aderência das

bactérias aos enterócitos. Desta forma o MOS oferece uma ligação competitiva com as bactérias diminuindo a adesão aos enterócitos, proporcionando a eliminação da bactéria pelo peristaltismo (BOROWSKY et al., 2009). Os mecanismos de modulação da resposta imune intestinal envolvem intensa interação entre a microbiota, encontrada em contagem aproximada de 10^{10} a 10^{11} células/g, e o sistema imunológico, tanto celular quanto humoral (ZOETENDAL et al., 2004). De forma geral, a microbiota intestinal é capaz de manter o estímulo imunológico no lúmen intestinal (MaC FARALAINÉ, 1999). O MOS pode atuar como substrato à bactérias como *Lactobacillus* sp. e *Bifidobacterium* sp., aumentando sua concentração e, conseqüentemente, o estímulo imunogênico. Além disso, a manose pode se ligar a receptores específicos presentes em macrófagos e células dendríticas, ativando, no primeiro momento o sistema imune celular (MORAN, 2004).

A utilização de MOS na ração de suínos desmamados foi avaliada por Borowsky (2009). Neste experimento, 23 animais foram randomizados em dois grupos, controle e tratamento com MOS. Os animais foram, então, inoculados e avaliados quanto à sorologia e excreção nas fezes. Os resultados mostraram tendência de diminuição de excreção da bactéria, entretanto não se observaram diferenças na sorologia. Em outro experimento conduzido por Calveyra et al. (2012), os animais foram tratados com MOS por 48 dias, sendo que amostras de fezes e sangue foram coletadas sistematicamente e vários tecidos foram coletados na necropsia. Com isto observou-se que embora o prebiótico não tenha evitado a infecção dos tecidos, a soroconversão e a contagem bacteriana nas fezes em $\log_{10} \text{UFC} \cdot \text{g}^{-1}$ decresceu de forma contínua dos sete aos 28 dias após a inoculação (DPI), sendo que a média foi menor comparada ao controle na coleta 28 DPI. Em relação à sorologia, este estudo mostrou que os valores de densidade óptica (DO) foram inferiores ao do grupo tratado em todas as coletas após a inoculação. Entretanto, todos os tratamentos apresentaram isolamento de *Salmonella* nos tecidos, como pulmões e tonsilas, não havendo diferenças entre eles.

Produtos obtidos da purificação das mananoproteínas contidas no MOS são descritos como mais potentes no combate à bactérias produtora de fímbria tipo I, uma vez que concentram as mananoproteínas, bem como, por processo de hidrólise, expõe a estrutura ativa da manose para ligação com a bactéria (HOOGE et al., 2013). Um estudo desenvolvido em camundongos sugere que as mananoproteínas protegem o tecido intestinal contra *S. Typhimurium*, além de inibir apoptose dos enterócitos (POSADAS et al., 2010). Outro estudo, com camundongos, conduzido no Brasil demonstrou que as

mananoproteínas foram capazes de estimular a resposta imune primária e secundária dos animais (DARPASSOLO et al., 2012), levando a maiores títulos de imunoglobulinas (Ig) totais 7 e 35 dias após tratamento com mananoproteínas.

As vacinas são importantes aliados no controle de doenças em medicina veterinária. No caso de *Salmonella*, a vacina ideal deve ser capaz de prevenir sinais clínicos, reduzir a excreção e ampliação da infecção, e aumentar o limiar de infecção dos animais suscetíveis. As vacinas vivas comerciais apresentaram, em relação às inativadas, bons resultados de indução de resposta imune celular e produção de IgA (HAESEBROUCK et al., 2004).

Em relação à interação da bactéria com o hospedeiro, em um primeiro momento, a ativação de citosinas e células de resposta inespecífica é fundamental para a defesa do hospedeiro. Sendo assim, as vacinas com cepas atenuadas de *Salmonella* por perda de virulência, mas que continuam vivas com a estrutura celular imunogênica, levam a maior estímulo de resposta imune (MASTROENI et al., 2000). Embora as vacinas comerciais testadas em suínos sejam produzidas com cepa de *Salmonella* Choleraesuis variedade Kunzendorf é esperado algum efeito de proteção cruzada com outros sorovares (WALLIS et al., 2001). Em um estudo comparando um grupo de animais vacinados e não vacinados, os primeiros tiveram redução da infecção por cepas do sorogrupo B e C1. Os resultados de isolamento demonstraram que os animais vacinados tiveram menor frequência de isolamento em fezes (BAUM et al., 1997).

Em uma revisão sistemática conduzida com trabalhos publicados entre 1979 e 2007, os resultados da vacinação dos suínos apresentaram resultados promissores. Entretanto, devido à heterogeneidade das variáveis respostas, falta de padronização nas metodologias de condução dos experimentos, ou, até mesmo, falta de informação sobre a metodologia de execução do estudo, impossibilitaram o cálculo da meta-análise da eficácia da vacinação na redução da prevalência de *Salmonella* (DENAGAMAGE et al., 2007). Em um estudo randomizado cego conduzido no Brasil por Schwarz et al. (2011), os animais foram acompanhados desde o nascimento até o abate e separados em grupo controle e vacinado. Sangue e fezes foram colhidos periodicamente para avaliar o status sorológico e de excreção dos animais em ambos os grupos. Ao abate, linfonodos mesentéricos e sangue foram colhidos. Os resultados demonstraram que os animais do grupo vacinado tiveram prevalências menores tanto no isolamento da *Salmonella* em linfonodos mesentéricos quanto na sorologia.

3 METODOLOGIA

O estudo propôs validar estratégias de controle de *Salmonella* em suínos submetidos a sistema integrado de criação em uma grande agroindústria exportadora localizada na região oeste do Estado de Santa Catarina. Este sistema é composto por: fábrica de ração, integração vertical em três sítios e *wean-to-finish* e planta frigorífica. A fábrica de ração produz diariamente 1200 toneladas de ração de suínos abastecendo parte do sistema de integração. A integração funciona com 94 unidades de produção de leitão (UPLs), 16 creches, 600 terminações e 14 *wean-to-finish*. O matadouro frigorífico tem capacidade de abate de 4000 animais diariamente.

O estudo foi realizado no período de agosto de 2011 a dezembro de 2013 totalizando 14 lotes de suínos acompanhados do nascimento ao abate. Foi avaliada a eficiência de três estratégias para o controle de *Salmonella*: 1) inclusão de prebiótico na ração (PRE), 2) vacinação nos primeiros dias de vida (VAC), e 3) sistema *wean-to-finish* (WTF). Estas estratégias foram consideradas tratamentos e comparadas ao um grupo controle (GC), sendo que em todas as estratégias as medidas sanitárias seguiram às mesmas exigidas no grupo controle.

3.1 Características de manejo

A empresa trabalha com sistema vertical de integração, com manejo em três sítios. As unidades produtoras de leitões (UPLs) possuem ciclo semanal de alojamento, o desmame é realizado aos 28 dias com 7,5 kg de peso médio. Manejos como mossagem, corte de cauda e desgaste de dentes e aplicação de ferro são realizados aos três dias de idade e a ração pré-inicial é fornecida aos leitões a partir de uma semana de vida.

Os animais permanecem por aproximadamente 35 dias na creche, são classificados quanto a sexo e peso, em uma densidade média de três animais/m². Durante esta fase, os animais consomem duas rações pré-iniciais e duas iniciais. Com peso médio de 22 Kg os animais são transportados à terminação.

No período de terminação os animais permanecem por aproximadamente 100 dias, sendo classificados quanto a sexo e peso. Mais de uma vez, durante o período de produção do lote, os animais são classificados conforme seu desenvolvimento corporal, a densidade média nesta fase é de um animal/m². Durante a terminação, sete tipos de

ração são fornecidos: alojamento, crescimento um (C1), C2, C3 e C4 e terminação um (T1) e T2. Ao fim do período de terminação os animais atingem em média 120 kg e são então transportados ao frigorífico.

Os manejos relativos utilização de fármacos, seja em caráter profilático ou terapêutico, seguem os mesmos padrões em todo o sistema de integração. Os procedimentos de limpeza e desinfecção na granja fazem parte de um programa de higiene e desinfecção determinado pela empresa integradora, sendo executado por empresas terceirizadas. A utilização de detergentes e desinfetantes, bem como, suas diluições, foram os mesmos utilizados em todas as granjas. Nas baias de espera, caminhões e matadouro-frigorífico, a limpeza e desinfecção foram realizadas por funcionários do setor de higienização da indústria e seguiu o procedimento operacional padrão interno da empresa.

3.2 Delineamento do estudo

Cada grupo de tratamento foi conduzido em três repetições (lote) com exceção do WTF realizado em duas granjas. Todos os lotes foram compostos por animais nascidos nas mesmas UPLs, com o intervalo de uma semana. A cada lote aproximadamente 1200 animais foram transportados das UPLs às creches. Após este período cerca de 600 animais foram transportados das creches às terminações. Ao fim da terminação uma carga de aproximadamente 100 animais foi acompanhada ao frigorífico. O fluxo de desmame/alojamento está resumido na Figura 1.

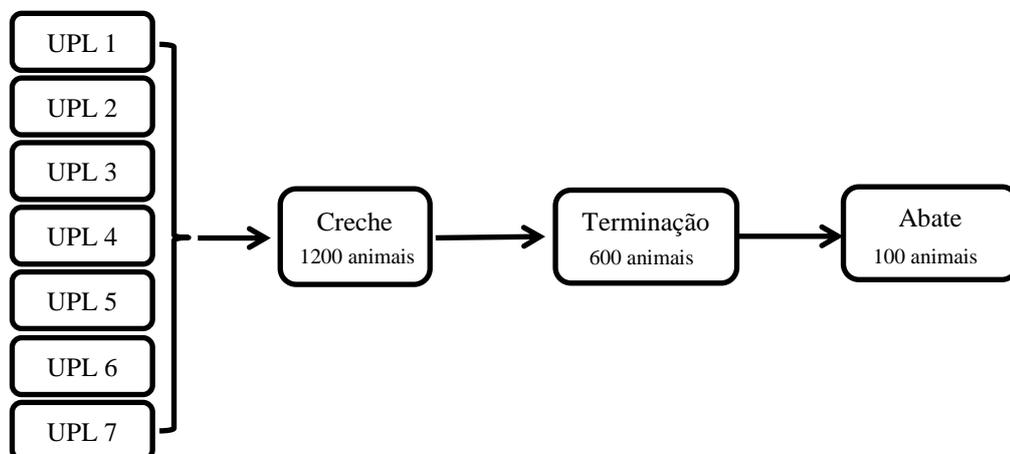


Figura 1 – Estrutura básica de cada lote acompanhado do nascimento ao abate.

Em 2011 foi conduzido o estudo dos grupos controle e vacinado, e os grupos que receberam prebiótico foram acompanhados em 2012. Os grupos WTF não seguiram o fluxo de animais descrito acima, pois havia a necessidade de um grande número de leitões. Foram utilizadas mais de sete UPLs para compor os lotes. Cada WTF alojou 4400 animais entre 2011 e 2012.

3.2.1 Grupo controle (GC)

Este grupo contou com granjas que seguem os requisitos mínimos de biossegurança, ou seja, são granjas que aplicaram as Boas Práticas de Produção (BPP). A avaliação ao atendimento destas exigências foi feita por visita mensal e aplicação de um *check-list* validado previamente (**Anexo I**). O processo de higienização iniciou no dia da saída do último animal, sendo que a instalação permaneceu vazia por, no mínimo, sete dias. A limpeza foi realizada com água pressurizada e detergente e a desinfecção por meio de bomba de aspersão com desinfetante fenólico.

3.2.2 Grupo vacina (VAC)

Esta estratégia consistiu na vacinação de todos os leitões com uma vacina viva atenuada Enterisol SC-54 (Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH) contendo cepa de *Salmonella Choleraesuis* variedade Kurzendorf SC-54 atenuada com passagens em neutrófilos suínos (ROOF et al., 1992). Os frascos de vacina ficaram sob a supervisão do executor, na sede da agroindústria. A quantia a ser aplicada nos animais foi retirada no início do dia e acondicionada em uma caixa isotérmica. Outro recipiente isotérmico foi utilizado para o transporte dos frascos do carro à granja. Os controles de temperatura foram feitos com termômetros digitais e *dataloggers*. As doses foram ressuspendidas com diluente estéril, fornecido pelo fabricante, e utilizadas em até duas horas.

Para que mais de 95% dos animais fossem vacinados em até dois dias de vida cada uma das UPLs foi visitada um dia sim e outro não. A cada animal dois mililitros da vacina foram administrados pela via oral. Por se tratar de uma vacina de bactéria viva, os produtores e funcionários das granjas foram instruídos a não administrar qualquer antimicrobiano no período de no mínimo três dias antes e após a vacinação. Em casos em que fora imprescindível o tratamento com agentes antimicrobianos, os animais em questão foram identificados por moxa (um furo no centro da orelha esquerda) e retirados da validação.

3.2.3 Grupo prebiótico (PRE)

Todos os animais receberam o prebiótico Actigen® (Alltech), proveniente da fragmentação das mananoproteínas ativas de Bio-Mos®. O produto é o resultado da purificação das mananoproteínas extraídas da parede do *Saccharomyces cerevisiae*. O fornecimento de prebiótico ocorreu a partir do desmame durante toda a vida dos animais. O produto foi incluído na ração durante a fabricação. As doses utilizadas foram recomendadas pelo fabricante e constam na Tabela 1.

A ração tratada com prebiótico destinada à fase de creche não foi fabricada de forma segregada, ou seja, toda batelada produzida no período foi tratada. Consequentemente, todos os crechários receberam ração tratada com o Prebiótico durante as oito semanas em que os lotes estudados estiveram alojados nos crechários. As rações destinadas às terminações foram fabricadas em processo segregado a fim de direcionar o produto apenas para as granjas do grupo PRE.

Tabela 1 – Quantidade de prebiótico incluído na ração destinada à alimentação dos animais do grupo PRE em cada período de idade.

Período de idade	Quantidade de prebiótico (g/ton)
Desmame - 35 dias	1600
36 dias - 50 dias	800
51 dias – Abate	400

O dia do desmame é contado como dia 1

3.2.4 Grupo *wean-to-finish* (WTF)

As granjas denominadas *wean-to-finish* são assim chamadas por terem sistema de alojamento em que a recria e terminação são realizados no mesmo galpão. Os manejos relativos à nutrição, sanidade e ambiente seguiram os mesmos padrões das demais granjas.

3.3 Colheitas de material biológico

As colheitas para isolamento de *Salmonella* foram realizadas em diversas etapas, desde a maternidade até a carcaça. Desta forma, tanto granjas (piso, comedouro e bebedouro), caminhões, animais, ração, baias de espera e carcaças foram amostrados conforme descrito a seguir. Os parâmetros utilizados nos cálculos de amostragem seguiram o conhecimento prévio obtido em trabalhos anteriores realizados na mesma região. Em todas as colheitas de material o operador seguiu procedimentos

padronizados: higienização das mãos com água em sabão, álcool e utilização e troca luvas quando necessário. O material foi identificado, acondicionado em caixa isotérmica e enviado ao laboratório de bacteriologia no mesmo dia.

3.3.1 Ambiente das granjas

UPL: foram amostradas as salas de maternidade imediatamente antes do alojamento das porcas que pariram os leitões utilizados na composição dos lotes do estudo. Para tanto, foram colhidas amostras de superfícies do piso da área das gaiolas por meio de suabes de arrasto e de esponjas no caso dos comedouros e bebedouros. As amostras foram acondicionadas em saco plástico estéril contendo 55 ml de água peptonada tamponada (APT) 1%. Na ocasião da coleta, as salas da maternidade estavam limpas, desinfetadas em vazio sanitário de pelo menos cinco dias.

Crechários: foram amostrados os crechários antes do alojamento dos leitões. Para tanto foram colhidas amostras de superfícies de piso por meio de *overshoes* e de suabe de comedouro e bebedouro por meio de esponja. A colheita ocorreu após a limpeza, desinfecção e vazio sanitário, sendo que as amostras foram suspendidas em 55 ml de APT 1%.

Terminações e WTF: o piso foi amostrado por meio de *overshoes* e os comedouros e bebedouros com auxílio de esponja. A colheita ocorreu após a limpeza, desinfecção e vazio sanitário, sendo que o material foi acondicionado em recipientes de vidro com APT 1%. Para estas colheitas, a granja foi dividida em quatro partes, a cada uma destas partes um par suabes de piso e uma esponja foram utilizados, totalizando quatro amostras em cada terminação. A amostra de bebedouro foi colhida em forma de pool, um em cada granja.

3.3.2 Caminhões

Cada caminhão destinado ao transporte dos animais que compuseram os lotes do estudo foi lavado e desinfetado. O caminhão permaneceu parado durante a noite anterior ao transporte dos animais que compuseram a primeira carga o dia. Antes do embarque dos animais, cada caminhão foi amostrado por meio de suabe de arrasto e acondicionado em saco plástico estéril com 55 ml de APT 1%.

3.3.3 Sangue e Fezes

Duas colheitas de sangue foram realizadas no período de terminação por venopunção da veia cava anterior. A primeira colheita foi realizada no dia do alojamento e a segunda quatro dias antes do abate (pré-abate). A amostragem foi realizada de forma randômica, sendo que o tamanho da amostra em cada colheita foi de 55 animais, calculado com o intuito de estimar a prevalência no lote. Os parâmetros utilizados foram: prevalência prévia de 80%; população 600 animais; erro absoluto de 10%; e nível de confiança de 95% segundo a seguinte fórmula:

$$n = \frac{z^2[p(1-p)N]}{d^2(N-1)+z^2[p(1-p)]} \quad (a)$$

(DOHOO, 2003), onde:

n=número amostral

N=tamanho da população

z= valor da distribuição normal padrão correspondente ao nível de confiança desejado

p= prevalência esperada

d=erro absoluto

No dia do alojamento na granja de terminação, durante a colheita de sangue, foram colhidas amostras de suabes retais dos mesmos animais. O material colhido foi identificado e armazenado em um frasco de vidro contendo APT 1%, formando desta forma um *pool*.

3.3.4 Ração

Cada carga de ração foi amostrada em três porções aleatórias no momento do descarregamento no silo em um saco plástico com capacidade para 10 Kg, de forma que cada tipo de ração fosse representada por um *pool* de 10 Kg. Esta amostra foi homogeneizada e uma porção de aproximadamente 100 g foi armazenada em saco plástico. Essa amostragem foi realizada pelos produtores sob orientação de lavar as mãos com água e sabão, desinfetar com álcool e calçar as luvas. O material colhido foi identificado, enviado ao laboratório de bacteriologia no dia do abate dos animais.

3.3.5 Baia de espera

As baias de espera que alojaram os lotes do estudo no pré-abate foram limpas e desinfetadas e permaneceram vazias durante o final de semana, uma vez que os abates ocorreram todos na segunda-feira. O piso destas baias foi amostrado por meio de *overshoes* o qual foi acondicionado em saco plástico estéril contendo 55 ml de APT 1%. O procedimento de colheita foi realizado cerca de 15 minutos antes da chegada dos animais.

3.3.6 Carcaças

Os lotes de suínos avaliados foram abatidos sempre nas segundas-feiras (primeiro dia do abate semanal), sendo o primeiro lote abatido no dia. Dentre os 600 animais do lote de terminação, cerca de 100 (uma carga) embarcados no caminhão ao acaso, foram acompanhados ao abate. Destes, as 40 primeiras carcaças foram deslocadas a uma câmara fria para realização da amostragem. O tamanho da amostra foi calculado para estimar a prevalência no dia de abate. Os parâmetros utilizados foram prevalência prévia de 20%, população 4000 carcaças, erro absoluto de 10%, e nível de confiança de 95% segundo a fórmula (a).

As carcaças foram amostradas por meio de fricção superficial com esponja estéril em quatro áreas de 100 cm² nos seguintes pontos: pernil, lombo, barriga e papada conforme **Anexo II**, totalizando 400 cm². A mesma esponja foi utilizada para dois pontos, totalizando duas esponjas por carcaça processadas conjuntamente como uma amostra única. Antes do uso, cada esponja foi hidratada em APT 1% e acondicionada em saco plástico individual. A área 100 cm² foi delimitada por um molde de papel estéril, trocado a cada carcaça.

3.3.7 Animais contemporâneos

Com o intuito de avaliar possíveis variações sazonais, o sangue de 60 animais abatidos no mesmo dia (contemporâneos), não pertencentes aos grupos estudados, foi colhido no momento da sangria. Considerando a população de 4000 animais abatidos/dia (população) aos acompanhados; prevalência prévia de 80%; erro absoluto 10% e nível de confiança de 95% a amostragem foi calculada segundo a fórmula (a). As amostras foram colhidas de forma sistemática em intervalos definidos pela fórmula (b) a cada 30 animais sangrados. As amostras foram armazenadas em tubos, identificadas e encaminhadas ao laboratório em temperatura ambiente no mesmo dia.

$$k = \frac{N}{n} \quad (b)$$

(DOHOO, 2003), onde:

k: intervalos entre as coletas

N: número total de animais contemporâneos

n: número amostral

3.3.8 Resumo das atividades de colheita

As descrições, bem como o número de amostras colhidas encontram-se resumidas na Tabela 2.

Tabela 2 – Número de amostras colhidas ao longo da validação em cada local de colheita.

Local de colheita	Nº de amostras
UPL: suabes de piso, comedouros e bebedouros	63
Caminhão: suabe de superfície	29
Creche: suabes de piso, comedouros e bebedouros	9
Terminação: suabes de piso, comedouros e bebedouros	44
Ração: partidas de ração recebida no período de terminação	85
Pools de suabe retal por lote de alojamento na terminação	11
Baias de espera: suabes de piso	11
Soro: alojamento e abate	1210
Carcaças: suabe de 400cm ² de superfície	440
Soro: suínos contemporâneos de abate	660
Total	2562

3.4 Procedimentos laboratoriais

3.4.1 Isolamento e identificação de *Salmonella* sp.

As amostras destinadas à bacteriologia (ambiente em granjas de terminação e WTF, suabe retal, ração e carcaças) foram submetidas à pesquisa de *Salmonella* sp. no laboratório de bacteriologia da Embrapa Suínos e Aves. As demais amostras (ambiente de UPLs, creches, caminhões e baias de espera) foram processadas nos laboratórios da agroindústria. Os dois laboratórios seguiam os procedimentos resumidamente descrito abaixo.

Primeiramente, as amostras passaram pela etapa de pré-enriquecimento onde foi adicionado o APT na proporção de 1:10, homogeneizadas (em *stomacher*, se necessário) e incubadas em estufa a 37°C por 24 horas. Posteriormente, passaram pela etapa de enriquecimento seletivo em que 100 µL da cultura pré-enriquecida foi transferida para tubos de ensaio contendo 9,9 ml de Caldo Rappaport Vassiliadis (RV) e 1 ml para tubos de ensaio contendo 9 ml de Caldo Tetrionato Muller-Kauffmann (TMK). Em seguida, foram incubadas em banho-maria ou estufa a 42°C por 24 horas. Após, foram semeados aproximadamente 20 µL da cultura submetida ao isolamento seletivo, em placas de Ágar Xilose Lisina Tegritol-4 (XLT4) e Ágar Verde Brilhante (VB) adicionado de novobiocina (40mg/L), permanecendo em 37°C por 24/48 horas. Posteriormente as amostras consideradas suspeitas foram submetidas às provas bioquímicas e teste de soroglutinação.

3.4.2 Detecção de anticorpos anti-*Salmonella* sp.

As amostras de sangue foram centrifugadas por 10 minutos a 600 g e 1 ml de soro foi transferido para microtubos e congeladas até o momento do uso. A detecção de anticorpos foi realizada no laboratório de bacteriologia da Embrapa Suínos e Aves. Por meio de ELISA indireto desenvolvido por Kich et al. (2007). Este teste é baseado em antígenos somáticos de *Salmonella* Typhimurium comuns aos sorovares mais prevalentes na Região Sul do Brasil.

Primeiramente, as placas de ELISA foram cobertas com 100 µl de antígeno (1:2000) em 0,5M de tampão carbonato (pH 9,6) e então incubados a 4°C por 18 horas. Após este período foram mantidas por pelo menos uma hora a -70 °C. Então, as placas foram lavadas três vezes por três minutos com tampão fosfato salina pH 7,4 contendo 0,05% de Tween 20 (PBS-T). O soro foi diluído (1:400) no PBS-T com 1% de albumina sérica bovina e pipetado em triplicata. Após incubação por 30 minutos a 37°C as placas foram lavadas como descrito acima. Em cada poço foram adicionados 100 µl de IgG anti-suíno conjugado com peroxidase diluída 1:25000 em PBS-T. As placas foram incubadas por uma hora a 37°C. Após as lavagens a reação foi revelada utilizando 100µl de substrato: 3,5µl de H₂O₂, 230µl de NaOH, 10µl de 3,3',5,' tetrametil-benzidina. Após 15 minutos, a temperatura ambiente, a reação foi bloqueada com 50 µl de H₂SO₄ 2M. As densidades ópticas foram avaliadas no leitor de placas no comprimento de onda de 450nm. O ponto de corte utilizado para interpretação foi a densidade óptica de 0,169 (KICH et al., 2007).

3.5 Análise dos dados

Os dados foram armazenados em um banco de dados construído em Microsoft Access®. Posteriormente, as análises descritivas foram realizadas com o intuito de explorar a distribuição das variáveis: soroprevalência e frequência de isolamento de carcaça em cada estratégia. As variáveis referentes às coletas de suabe de ambiente e caminhão foram agrupadas na variável *contaminação prévia*.

Para verificar diferenças entre os grupos foram construídos três modelos de regressão logística com as seguintes variáveis resposta:

1° **Sorologia no alojamento**, considerando as variáveis de confundimento: contaminação em ambiente de UPLs, creche, terminação ou caminhão (contaminação prévia);

2° **Sorologia antes do abate (pré-abate)**, considerando as seguintes variáveis de confundimento: sorologia dos contemporâneos, sorologia no alojamento e contaminação em ambiente de UPL, creche, terminação ou caminhão (contaminação prévia);

3° **Suabe de carcaça**, considerando as seguintes variáveis de confundimento: sorologia no abate, sorologia no alojamento e contaminação em ambiente de UPL, creche, terminação ou caminhão (contaminação prévia).

Todos os modelos seguiram a seguinte fórmula de regressão:

$$\text{logit}[p] = \beta_0 + \beta X_{\text{tratamento}} + \beta X_1 \dots \beta X_i$$

Onde:

- p : probabilidade de ser positivo para *Salmonella* sp. (sorologia ou bacteriologia)
- β_0 : Intercepto das equações
- $\beta X_{\text{tratamento}}$: estimador do efeito dos tratamentos
- βX_1 : estimador da primeira variável de confundimento
- βX_i : Estimador da i ésima variável de confundimento

Ainda, o efeito dos tratamentos foi avaliado sobre a sorologia dos animais contemporâneos.

A significância de das variáveis foi avaliada por meio do *valor p* da variável no modelo. Quando houve *valores p* significativos, para as confundidoras, o ajuste do modelo foi avaliado por meio do valor do *Deviance/Graus de liberdade*. Modelos em que os valores de *Deviance* diferiram de um foram considerados com fraco ajuste e, conseqüentemente, rejeitados. O nível de significância de cada covariável no modelo foi de 5%. Todas as análises foram realizadas com os procedimentos PROC UNIVARIATE e PROC LOGISTIC no software SAS versão 9.2 para Windows. Copyright © 2012 SAS Institute Inc.

4. RESULTADOS

A Tabela 3 apresenta os resultados do isolamento de *Salmonella* dos ambientes onde os suínos foram alojados e transportados. Foi possível observar a contaminação por *Salmonella* no ambiente onde oito dos 11 lotes estudados foram criados (Tabela 3). Este resultado comprova que os lotes de suínos avaliados foram expostos à bactéria no ambiente das granjas mesmo após o processo de higienização. Não houve isolamento de *Salmonella* nas amostras de suabe retal no dia do alojamento e nem nas rações coletadas ao longo da fase de terminação.

Tabela 3 - Isolamento de *Salmonella* em diferentes ambientes de alojamento e transporte dos 11 lotes avaliados durante a validação.

Repetição	UPL	Creche	Caminhão	Terminação	Espera
GC1	-	-	-	+	-
GC2	+	-	-	-	-
GC3	+	-	-	-	-
VAC1	-	+	+	+	-
VAC2	+	+	-	-	-
VAC3	+	-	-	-	-
WTF1	NR	NR	-	-	-
WTF2	NR	NR	-	-	-
PRE1	-	-	-	-	-
PRE2	+	+	+	-	-
PRE3	+	-	+	-	+

(+) = Positivo para *Salmonella*; (-) = Negativo para *Salmonella*; **NR**= Não realizado; GC=Grupo controle; VAC=Grupo vacinado; PRE=Grupo prebiótico; WTF= Grupo *wean-to-finish*

Em relação aos modelos estatísticos de comparação entre os grupos, não foram observadas variáveis de confundimento significativas. A contaminação residual de granjas, caminhões e baias de espera, bem como a sorologia ao alojamento ou no pré-abate não influenciaram as prevalências sorológicas e de isolamento em carcaça, mantendo-se apenas o efeito dos tratamentos no modelo. Desta forma, o ajuste dos modelos por meio do *Deviance* não foi utilizado, sendo apenas os valores *p* dos testes de *qui-quadrado* dos tratamentos utilizados. Ainda, a exclusão da sorologia dos contemporâneos como confundidora do modelo de soroprevalência no pré-abate, exclui a hipótese de variação sazonal na prevalência do sistema de integração.

As soroprevalências encontradas no momento do alojamento variaram de 1,2% a 3,6%, nos tratamentos VAC e WTF respectivamente. Em todos os tratamentos houve aumento durante a fase de terminação, evidenciada pela soroprevalência no pré-abate,

valores estes que variaram de 50,3% até 99,09% nos tratamentos PRE e WTF respectivamente (Figura 2).

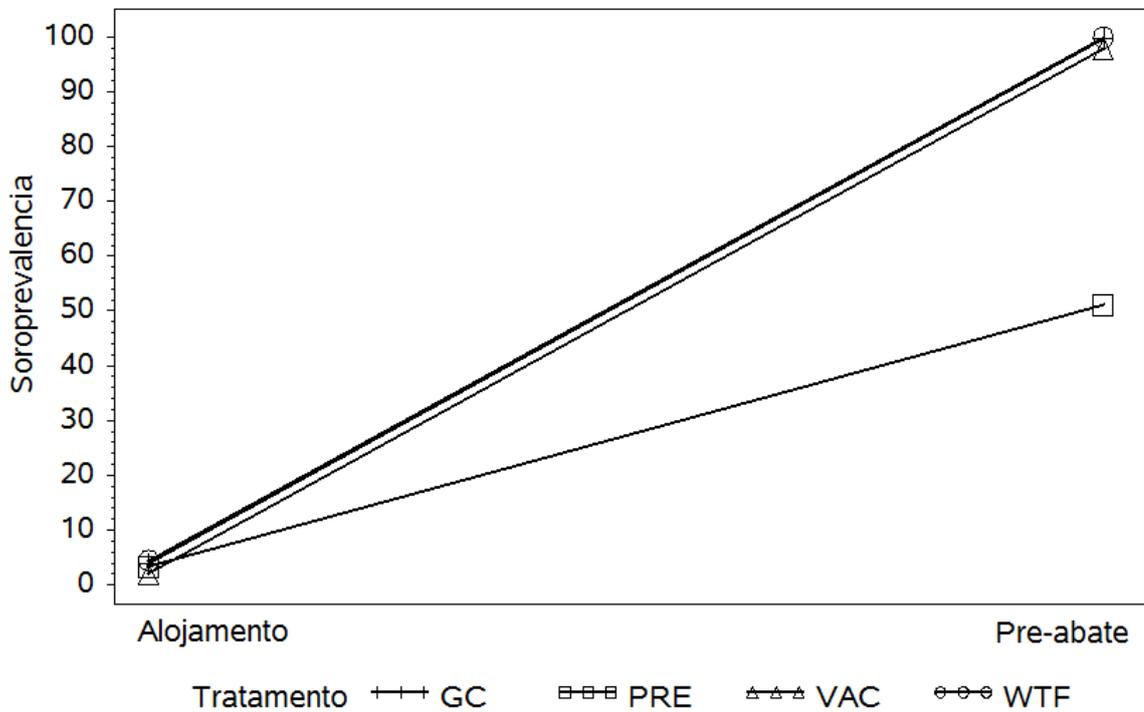


Figura 2 – Soroprevalências ao alojamento e pré-abate de cada tratamento validado. GC=Grupo controle; VAC=Grupo vacinado; PRE=Grupo prebiótico; WTF= Grupo *wean-to-finish*

As distribuições das densidades ópticas observadas no teste de ELISA para cada tratamento estão representadas nas Figuras 3 e 4. Observam-se médias e variabilidades menores nas coletas realizadas no alojamento, bem como em todos os tratamentos, os animais alojados têm a moda da distribuição das densidades ópticas abaixo do ponto de corte (Figura 3). Na coleta de sangue realizada no pré-abate, as médias e variabilidades são maiores e as modas das distribuições encontram-se acima do ponto de corte, com exceção do grupo PRE (Figura 4).

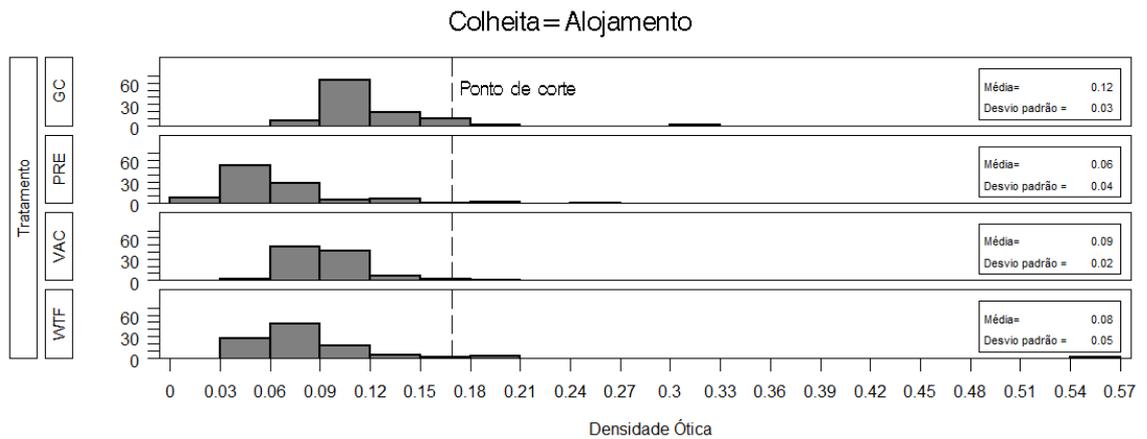


Figura 3 – Distribuição de densidades ópticas dos animais em cada tratamento no momento do alojamento, média e desvio padrão.

GC=Grupo controle; VAC=Grupo vacinado; PRE=Grupo prebiótico; WTF= Grupo *wean-to-finish*

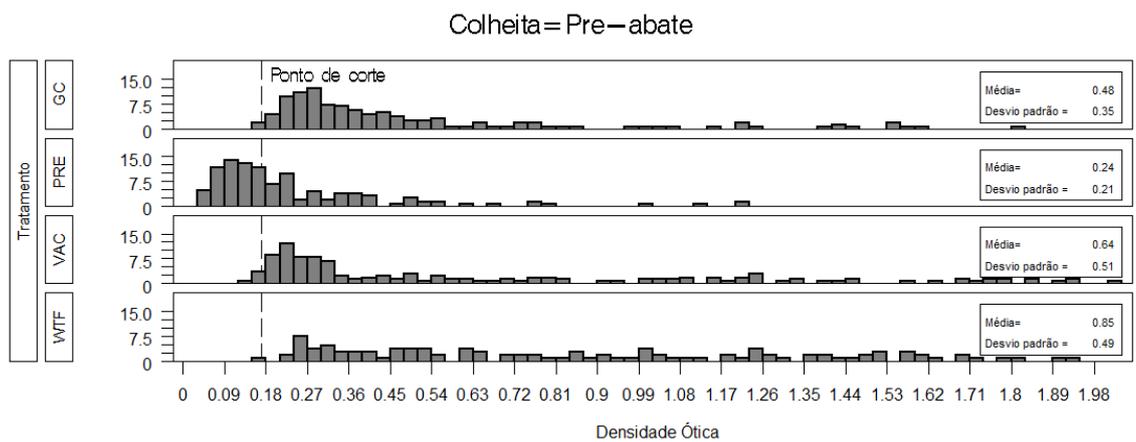


Figura 4 – Distribuição de densidades ópticas dos animais em cada tratamento antes do abate, média e desvio padrão.

GC=Grupo controle; VAC=Grupo vacinado; PRE=Grupo prebiótico; WTF= Grupo *wean-to-finish*

Da mesma forma como observado nos lotes avaliados, os animais contemporâneos tiveram valores elevados de soroprevalência, variando de 72% a 100% nos contemporâneos aos grupos PRE e WTF respectivamente (Tabela 4). Os resultados da coleta pré-abate mostram que o tratamento PRE reduziu significativamente, em média 48 pontos percentuais a prevalência sorológica quando comparado com os demais. Os grupos CG, VAC e WTF não apresentaram diferenças significativas em relação à soroprevalência pré-abate (Tabela 4).

Quanto à contaminação superficial de carcaça, os grupos GC e WTF não diferiram estatisticamente, ao passo que o grupo PRE resultou em 0%, sendo significativamente menor que os demais. O grupo VAC teve a maior frequência, 29%

de carcaças positivas, sendo significativamente maior. O resumo das comparações entre os grupos para as coletas realizadas está na Tabela 4.

Tabela 4 – Prevalência (positivos/total) para *Salmonella* em amostras de sangue e carcaças em cada grupo nas diferentes colheitas.

Tratamentos	Soro. Alojamento	Soro. pré-abate	Soro. Contemporâneos	Bac. Carcaça
GC	3,03 (5/165)	98,79 ^c (163/165)	100,0 ^c (180/180)	18,33 ^c (22/120)
PRE	2,42 (4/165)	50,30 ^a (83/165)	72,22 ^a (130/180)	0,00 ^a (0/120)
VAC	1,21 (2/165)	96,97 ^c (160/165)	100,0 ^c (180/180)	29,17 ^d (35/120)
WTF	3,64 (4/110)	99,09 ^c (109/110)	92,50 ^b (111/120)	15,00 ^c (12/ 80)

Porcentagens seguidas por letras distintas nas colunas diferem significativamente pelo teste de χ^2 (P<0,05).

Soro.=sorologia; Bac.=Bacteriologia

GC=Grupo controle; VAC=Grupo vacinado; PRE=Grupo prebiótico; WTF= Grupo *wean-to-finish*

5. DISCUSSÃO

Os resultados observados neste estudo demonstram que os suínos estiveram em contato com *Salmonella* ao longo do ciclo e produção. O ambiente das granjas, baias de espera e caminhões estavam contaminados e a bactéria persistiu após os procedimentos de higienização. Oito dos 11 lotes estudados foram expostos à contaminação ambiental. Embora a higienização tenha sido realizada seguindo protocolos idênticos, a limpeza foi realizada por empresas terceirizadas, e possivelmente não foram os mesmos funcionários que participaram do processo em todas as granjas, o que pode ter influenciado na eficiência do procedimento.

Procedimentos de higienização em granjas, baias de espera e caminhões foram objeto de estudos realizados por Mannion et al. (2008) e Arguello et al. (2011). Estes autores salientaram o fato de que, mesmo após a higienização e aprovação visual por parte dos veterinários, foi isolada *Salmonella*. Segundo Mannion et al. (2008) caminhões que transportam lotes de suínos com alta prevalência de infecção têm maiores frequências de isolamento da bactéria após a higienização. As falhas do processo são multifatoriais, sendo que as superfícies porosas das estruturas das granjas como piso, paredes, bebedouros e comedouros, são de difícil higienização, bem como a presença de matéria orgânica e formação de biofilmes que dificultam a ação de alguns sanitizantes. A falta de padronização do processo de limpeza e desinfecção e a falta de informação técnica sobre eficiência de desinfetantes em condições de produção também são considerados pontos críticos. A importância da higienização eficiente se justifica pelo risco de infecção dos novos lotes de suínos sistematicamente alojados em granjas com contaminação residual de *Salmonella* (ARGUELLO et al., 2011; MANNION et al., 2008).

Os dados analisados nesta validação não permitem conclusões acerca do impacto da contaminação residual em granjas, caminhões e baias de espera nos resultados de sorologia ou contaminação em carcaças. Entretanto, sugerem que os procedimentos de limpeza deveriam ser revistos, avaliando a qualidade da higienização no controle de variáveis como treinamento dos envolvidos (sejam proprietários funcionários ou terceiros), padronização das atividades e maior conhecimento sobre a suscetibilidade das bactérias frente aos desinfetantes e interações com a matéria orgânica, e não apenas na inspeção visual.

Todas as amostras de ração foram negativas para *Salmonella*. Entretanto, estudos prévios conduzidos na mesma região demonstram a presença da bactéria nas rações destinadas à alimentação de suínos. Aproximadamente 29% das amostras de ração foram positivas em colheitas realizadas em 12 granjas de terminação (KICH et al., 2011). Pellegrini (2012) encontrou, em um estudo realizado em quatro fábricas de rações de suínos, *Salmonella* em 2,5% de amostras do produto final, 12,2% nos transportadores e 9,68% no ambiente (poeira) das fábricas. A dificuldade de obtenção de uma amostra representativa de ração pode limitar o método de detecção da bactéria (FUNK et al., 2001). Outros fatores como limitações das técnicas laboratoriais (MACIOROWSKI et al., 2006) podem tornar mais difícil afirmar que as rações fornecidas aos animais estavam livres de *Salmonella*, devendo ser considerado além do limite de detecção do teste, a sensibilidade de detecção devido à amostragem (DAVIES et al., 2004).

As análises de bacteriologia em suabes retais foram todas negativas. Schwarz et al. (2006), após 21 dias de alojamento na creche não isolaram *Salmonella* em nenhuma amostra de fezes, entretanto obtiveram 49% de animais positivos no momento do alojamento na terminação. Neste caso houve amplificação de infecção intra-rebanho no final de creche, ou durante os procedimentos de carregamento, transporte e reagrupamentos de lotes. Um ponto importante para discussão é a sensibilidade do método de colheita de fezes por suabe retal. De acordo com Funk et al. (2000), a distribuição das bactérias nas fezes, principalmente em animais com baixa excreção, se dá de maneira desuniforme, sendo que o valor de sensibilidade do suabe retal estaria em torno de 8%. Desta forma, o resultado obtido deve ser entendido como ausência relativa de *Salmonella*, devendo-se evitar afirmar que 100% dos animais amostrados da população não excretavam a bactéria no momento da coleta.

Os resultados dos testes sorológicos observados no alojamento mostram que as soroprevalências foram baixas em todos os grupos, variando de 1,2 a 3,6%, sem diferença estatística significativa (Tabela 4). Com isso, observa-se que aproximadamente 4% dos animais entraram em contato com a bactéria cerca de 10-20 dias antes de serem transportados à terminação (NIELSEN et al., 1995). Os resultados obtidos nos suabes retais, somados às baixas soroprevalências no alojamento, indicam que a infecção ocorreu em uma frequência baixa de animais até o início da fase de terminação.

Quando observados os resultados da sorologia no pré-abate, os valores de soroprevalência variam de 50,3% até 99,1%, ficando clara a infecção durante o período compreendido entre os últimos dias de creche e cerca de 20 dias antes do abate. Da mesma forma, as soroprevalências dos animais contemporâneos variaram de 72,2% até 100%. Estes resultados reafirmam o que fora encontrado anteriormente no Brasil (MÜLLER et al. 2009; SILVA et al., 2006), sendo que a terminação tem sido considerada a etapa mais crítica à amplificação da infecção por *Salmonella* em rebanhos suínos.

O grupo WTF não foi diferente do grupo controle em relação à soroprevalência no pré-abate, as quais foram altas em ambos os grupos. No meio oeste do Estado de Santa Catarina, Garbado et al. (2013) demonstraram frequências e período de ocorrência de doenças nas granjas, bem como desvios de carcaças por pleurísias em sistema WTF semelhantes àquelas registradas em sistemas tradicionais. As causas atribuídas a estes resultados foram o grande número de origens de animais, longo tempo de transporte e deficiência das instalações em fornecer conforto térmico para os leitões desmamados. De acordo com Fangman et al. (2001), a principal vantagem do sistema WTF é evitar o estresse do transporte e reagrupamento, se estes fatores não forem respeitados, o benefício do sistema é minimizado, levando a resultados de produtividade semelhantes ao sistema tradicional de três sítios.

A comparação de diversos aspectos zootécnicos e sanitários do sistema WTF com o sistema tradicional é discutida por Peralta (2008). Resultados positivos em sistemas de WTF são possíveis desde que o sistema esteja bem estruturado, as granjas ofertem boas condições de ambiência para os animais, sistema de arração e fornecimento hídrico adequado, densidade animal ajustada, além de mão de obra treinada a manejar desde animais recém desmamados até os terminados. Outro aspecto importante é a organização do fluxo de produção em sistemas integrados. Deve haver adequado número de matrizes a fim de proporcionar leitões suficientes, evitando que seja necessário agrupar animais de um grande número de origens para completar o alojamento da granja.

As granjas em que foram alojados os animais dos grupos GC e WTF seguem os mesmos procedimentos de biossegurança das demais. Embora sejam esperados resultados melhores no grupo WTF, devido à estrutura preparada para a execução de manejos de higiene, arração e ambiência; problemas de planejamento de

produção, levando ao aumento do tempo de transporte e número de origens nas granjas WTF podem ter influenciado os resultados.

De qualquer forma, os resultados encontrados nos dois grupos GC e WTF refletem realidades já descritas em estudos observacionais conduzidos em granjas de suínos da mesma região. Em um estudo transversal, 65 granjas de Santa Catarina e do Rio Grande do Sul foram visitadas antes do abate, sendo que 98,5% foram positivas no ELISA, com soroprevalência média de 57,6 % (IC 95% 56-60%) (KICH et al., 2005). Silva et al. (2006) encontraram 76,9% de soroprevalência ao abate em um lote com histórico prévio de isolamento de *Salmonella*. Outro estudo realizado em granjas pertencentes a três empresas integradoras, a soroprevalência ao abate variou entre 73,8% e 83,2% (SCHWARZ et al., 2009).

As possíveis fontes de infecção de um rebanho são inúmeras, podendo ser citados estudos como o de Kich et al. (2005) e Schwarz (2009), que identificaram problemas de biossegurança e de estrutura da propriedade como os principais fatores de risco. Ainda, contaminações residuais em instalações, caminhões e cargas de ração contaminadas podem figurar como fontes de infecção de um rebanho (DAHL et al., 1997; KICH et al., 2011; MANNION et al., 2008). Embora o presente estudo não tenha se proposto a inferir sobre a prevalência de *Salmonella* em todo sistema de integração, os resultados indicam que há forte pressão de infecção no campo e que, possivelmente, falhas sistemáticas de biossegurança ocorreram durante a criação dos animais.

Houve diferença estatística significativa favorável ao grupo PRE em relação aos demais. Em média, o grupo em questão teve a prevalência sorológica 48 pontos percentuais abaixo dos demais. As variáveis testadas como possíveis confundidoras ao efeito dos tratamentos não tiveram significância no modelo, sugerindo que, principalmente, o efeito do tratamento foi observado. O resultado dos animais contemporâneos ao grupo PRE foi significativamente mais baixo que os demais contemporâneos. Visto que a ração com Actigen®TM foi fornecida a todos os crechários da agroindústria no período do estudo, acredita-se que este resultado seja o efeito do produto fornecido aos animais contemporâneos apenas no período de creche. O fato de a variável sorologia dos contemporâneos não ter sido significativa no modelo pré-abate, exclui a possibilidade de que haja uma flutuação sazonal influenciando os resultados obtidos em favor do grupo PRE.

Este é o primeiro estudo realizado no Brasil que avaliou o efeito do Actigen®TM sobre a soroprevalência de *Salmonella* em suínos de granjas comerciais,

sendo que poucas informações podem ser obtidas de outros estudos. De acordo com Moran (2004) tanto o mananoligosacarídeo quanto a mananoproteína atuam de forma semelhante em bactérias Gram-negativas por dois principais mecanismos: aglutinação das fímbrias tipo I e modulação da resposta imune do hospedeiro, sendo o primeiro aparentemente o mais discutido na literatura. Embora o autor não explique a ação dos prebióticos citados especificamente contra *Salmonella*, a colonização intestinal é reconhecida como ponto inicial da infecção bacteriana nos enterócitos; as lectinas manose-específicas das fímbrias tipo I das bactérias reconhecem e se ligam às glicoproteínas nas células do hospedeiro (ricas em manose). Desta forma, ocorre o bloqueio competitivo das lectinas das fímbrias bacterianas, impedindo o primeiro passo para a infecção bacteriana dos enterócitos.

A característica do Actigen®TM ser um produto derivado do mananoligosacarídeo, obtido pelo processo de extração das mananoproteínas (HOOGE et al., 2013), faz com que a estrutura do MOS responsável pela aglutinação de bactérias seja fornecida de forma concentrada, aumentando assim a probabilidade da ligação prebiótico-bactéria e minimizando as interações de *Salmonella* com os enterócitos. O efeito da utilização de MOS sobre a modulação da microbiota e da imunidade local foi discutida por MaCFaralaine e Cummings (1999). Os autores sugerem que a promoção do desenvolvimento de bactérias dos gêneros *Lactobacillus* e *Enterococcus* estimula a produção de citocinas, proliferação de monócitos e fagócitos, além de síntese de IgA na mucosa. Em camundongos, foi observado que animais tratados com mananoproteínas tiveram melhor regulação inflamatória intestinal e menor número de células em apoptose, demonstrando efeito de promoção da integridade intestinal (POSADAS et al., 2010).

De acordo com Good (2013), em um experimento realizado com suínos e conduzido nos Estados Unidos, a suplementação com Actigen®TM do desmame ao abate na concentração de 400g/ton levou ao aumento da área total e densidade de células caliciformes, mas não ao aumento na expressão de genes de citocinas. Apesar dos resultados favoráveis ao PRE, deve-se levar em consideração que a unidade experimental observada foi o lote, o número de animais amostrados em cada lote representou melhor o cenário de prevalência intra-rebanho. Desta forma, temos a comparação de três unidades de experimentação em cada grupo. Ainda, a validação em questão foi realizada em lotes comerciais, e não em granjas experimentais. Embora as granjas tenham sido acompanhadas mensalmente e avaliadas por meio de *check lists* de

boas praticas, possíveis fontes de variação não puderam ser controladas. O número de repetições (lotes) pode não ter sido suficiente para diluir o efeito destes variáveis aleatórias sobre os resultados.

O grupo submetido à vacinação mostrou resultados semelhantes àqueles encontrados nos grupos CG e WTF, com altas soroprevalências pré-abate. As características de resposta imune do hospedeiro frente à *Salmonella* requerem, em um primeiro momento, a atuação de células de resposta inflamatória inespecífica e produção de citocinas, sendo que os anticorpos têm importância secundária (MASTROENI et al., 2000). Desta forma, vacinas vivas são mais adequadas no intuito de promover aumento da imunidade celular, principalmente na proteção contra bactérias intracelulares facultativas como *Salmonella* (HAESEBROUCK et al., 2004).

Em uma revisão sistemática, foram observadas evidências qualitativas da eficiência da vacina em reduzir a prevalência dos rebanhos (DENAGAMAGE et al., 2007). Em um estudo controlado realizado no Canadá, Lettelier et al. (2001) encontraram que a Enterisol SC 54 foi capaz de diminuir a excreção de *Salmonella*, bem como aumentar a imunidade local. No Brasil, Schwarz et al. (2011) conduziram um estudo randomizado cego, utilizando a mesma vacina, em que pode ser comprovada a diminuição de excreção e de sorologia em animais vacinados.

Em relação às contaminações de carcaças apenas no grupo PRE não houve amostras positivas, sendo significativamente diferente das demais. Os grupos WTF e GC tiveram contaminações de 15 e 18% respectivamente, não havendo diferença significativa. No grupo VAC se observou diferença significativa em relação aos demais, sendo que ocorreu a maior frequência de contaminação superficial de carcaças (29%). Outros estudos realizados na mesma região, com rebanhos comerciais mostram resultados semelhantes. Em um estudo longitudinal 24% das amostras de suabe de carcaça foram positivas (KICH et al., 2011). Posteriormente Silva et al. (2012) encontraram 14,7% das amostras de carcaças positivas.

O processo de contaminação/descontaminação de uma carcaça é o resultado da complexa interação de fatores (ALBAN e STÄRK, 2005), entre eles a pressão de infecção dos lotes abatidos, manejo pré-abate, processamento na linha de abate (depiladeira, flambagem, polimento, evisceração, toaletes e cortes), higiene das instalações frigoríficas, entre outras (SILVA et al., 2012). Embora o abate tenha ocorrido na mesma planta frigorífica e que algumas fontes de variação como o dia e horário de abate e baia de espera puderam ser padronizadas, devido à complexidade do

processo, as demais etapas do processo não puderam ser acompanhadas. O que se observa nas frequências de carcaças positivas neste estudo é o efeito da probabilidade da interação de diversas fontes de contaminação atuando, sendo difícil quantificar o quanto é atribuível especificamente ao efeito do tratamento.

Ainda que o objetivo do estudo não tenha sido traçar uma correlação entre soroprevalência e contaminações de carcaça, e inferências não possam ser realizadas, foi possível observar que no grupo com menor soroprevalência a frequência de contaminações foi significativamente menor que nos grupos que tiveram altas soroprevalências. Um modelo de predição de contaminação de carcaças desenvolvido por Baptista et al. (2010), levando em conta diferentes plantas frigoríficas, demonstrou que em todos os frigoríficos há efeito direto da entrada de animais soropositivos para *Salmonella*. A contaminação de carcaças diária, estimando que se forem entregues menos de 50 suínos soropositivos por dia, poderia ser mantida em 1%.

A diferença significativa que há entre o grupo VAC e CG e WTF deve ser vista com cautela. Estudos revelam que o dia de abate pode exercer uma fonte de variação significativa nas contaminações principalmente quando o número de animais positivos é alto (SWANENBURG et al., 2001). Em virtude das altas soroprevalências destes grupos, seria prudente considerar que efeitos isolados no dia de abate possam ter influenciado a maior frequência de isolamentos no grupo VAC.

6. CONCLUSÕES

Apesar da aplicação e verificação das boas práticas de produção, contaminações residuais em granjas e caminhões ainda ocorreram. As soroprevalências dos lotes CG, WTF e VAC no pré-abate foram mais altas em relação ao grupo PRE, sendo o fim da creche e terminação as etapas de amplificação de infecção nos rebanhos estudados.

O prebiótico Actigen®TM reduziu de forma significativa a soroprevalência, bem como a contaminação de carcaças. Não foram observados resultados favoráveis à utilização da vacina e do sistema *wean-to-finish*.

As extrapolações destes resultados devem ser feitas com cautela, devendo sempre ser consideradas as condições de condução e as características da população submetida a esse processo de validação.

REFERÊNCIAS

ACHA, P.; SZYFRES, B. **Zoonoses and communicable diseases common to man and animals: Bacterioses and Mycoses**. 3. ed., v. 1, Washington, D.C.: World Health Organization, 2001.

ALBAN, L.; STEGE, H.; DAHL, J. The new classification system for slaughter-pig herds in the Danish Salmonella surveillance-and-control program. **Preventive Veterinary Medicine**, v.53, p. 133-146, 2002.

ALBAN, L.; STÄRK, K. D. Where should the effort be put to reduce the Salmonella prevalence in the slaughtered swine carcass effectively? **Preventive Veterinary Medicine**, v. 68, p.63-79, 2005.

ALTHOUSE, C.; PATTERSON, S.; FERDOKACRAY, P.; ISAACSON, R. Type 1 fimbriae of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium bind to enterocytes and contribute to colonization of swine in vivo. **Infection and Immunity**, v. 71, p. 6446-6452, 2003.

ARGUELLO, H.; JARAMILLO, P.; BARRIOS, V.; GARCIA, M.; CARVAJAL, A. Evaluation of cleaning and disinfection procedures against *Salmonella enterica* at swine farms, transport and lairage facilities. In: SAFEPORK CONFERENCE, 2011, Maastricht. **Proceedings**. Holanda: SAFEPORK, 2011.

BAPTISTA, F. M.; DAHL, J.; NIELSEN, L. R. Factors influencing *Salmonella* carcass prevalence in Danish pig abattoirs. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 95, p. 231-238, 2010.

BARROW, P. A.; JONES, M. A.; THOMSON, N. *Salmonella*. In: GYLES, C. L.; PRESCOTT, J. F.; SONGER, G.; THOEN, C. O. **Pathogenesis of bacterial infection in animal**. 4 Ed. Wiley-Blackwell, 2010.

BAUM, D. H.; HARRIS, D. L.; ROOF, M. B.; NIELSEN, B.; HOLCK, J. T.; POLSON, D. P.; BAIK, J. Use of SC-54 for the reduction of *Salmonella* in swine. In International Symposium on Epidemiology and Control of *Salmonella* in Pork. Copenhagen. **Proceedings** Dinamarca, p. 215-220, 1997.

BAURHOO, B.; GOLDFLUS, F.; ZHAO, X. Purified cell wall of *Saccharomyces cerevisiae* increases protection against intestinal pathogens in broiler chickens. **International Journal of Poultry Science**, v. 8, n. 2, p. 133-137, 2009.

BESSA, M. C.; COSTA, M.; CARDOSO, M. R. I. Prevalência de *Salmonella* sp. em suínos abatidos em frigoríficos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.24, p. 80-84, 2004.

BOROWSKY, L. M.; BESSA, M. C.; CARDOSO, M. R. I.; AVANCINI, C. A. M. Sensibilidade e resistência de amostras de *Salmonella* Typhimurium isoladas de suínos abatidos no Rio Grande do Sul/Brasil frente aos desinfetantes químicos quaternário de amônio e iodoform. **Ciência Rural**, v. 36, n. 5, p. 1474-1479, 2006.

BOROWSKY, L. M. Adição de mananoligossacarídeo à dieta como alternativa para o controle da infecção por *Salmonella* sp. em leitões em fase de creche. **Tese de Doutorado**, UFRGS, 108, p., 2009.

BOROWSKY, L.; CORÇÃO, G.; CARDOSO, M. R. I. Mannanligosacharidae agglutination by *Salmonella enterica* strains isolated from carrier pigs. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 40, p. 458-464, 2009.

BOTTELDOORN, N.; HEYNDRICKX, 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.

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

BRASIL. Portaria Nº. 2.325/GM, DE 8 DE Dezembro de 2003. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 10 de Dezembro de 2003, Nº. 240, seção 1, pág. 81.

BRASIL (a). Secretaria de Vigilância em Saúde. Vigilância Epidemiológica das Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar – VEDTHA. 2011. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/10_passos_para_investigacao_surtos.pdf. Acessado em: 1/12/2013.

BRASIL (b). portaria GM/MS Nº 104, de 25 de janeiro de 2011b. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 26 de Janeiro de 2011, Nº.18, seção 1, pág. 37.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Projeções do Agronegócio: Brasil 2012/2013 a 2022/2023 - Projeções de Longo Prazo. 2013. 96 p.

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

BRUMM, M. C.; BAYSINGER, A.; CLEMENTS, E.; WILS, R.; Impact of Wean-to-finish Facility Management on SEW Performance and Physiological Responses from Weaning to Slaughter. In: American Association of Swine Practitioners 30th, 1999, Hanover. **Conference Paper**: Alemanha: AASP, 1999.

BRUMM, M. C.; BAYSINGER, A. K.; WILLS, R. W.; THALER, R. C. Effect of wean-to-finish management on pig performance. **Journal of Animal Science**, v. 80, p. 309-315, 2002.

BUNCIC, S. Food Chain and health hazards. **Integrated Food Safety and Veterinary Public Health**. Trowbridge: Cromwel press, 2006, cap. 1, p. 3-45.

CALVEYRA, J.; NOGUEIRA, M. G.; BIESUS, L. L.; VIZZOTTO, R.; BERNO, L.; COLDEBELLA, A.; LOPES, L.; MORÉS, N.; LIMA, G. J. M. M.; CARDOSO, M. R. I. Effect of orgânica acind and mannanoligosacaridade on excretion of salmonella typhimuruim in experimentally infected growing pigs. **Research in Veterinary Science**, v. 93, p. 46-47, 2012.

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.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. CDC Estimates of Foodborne Illness in the United States. 2011. Disponível em: <http://www.cdc.gov/foodborneburden/2011-foodborne-estimates.html>. Acessado em: 1/12/2013.

CÔTÉ, S.; LETELLIER, A.; LESSARD, L.; QUESSY, S. Distribution of Salmonella in tissues following natural and experimental infection in pigs. **The Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 68, p. 241-248, 2004.

DAHL, J.; WINGSTRAND, B.; NIELSEN, B.; BAGGESEN, D. L. Elimination of *Salmonella typhimurium* infection by the strategic movement of pigs. **The Veterinary Record**, v. 140, n. 26, p. 679-681, 1997.

DARPASSOLO, F. P. B.; ETO, S. F.; VENANCIO, E. J.; CASTRO-GOMÉZ, R. J. H. *Saccharomyces uvarun* Mannoproteins Stimulate a Humoral Immune response in Mice. **Brazilian archives of Biology and Technology**, v. 55, n. 4, p. 597-602, 2012.

DAVIES, P. R.; HURD, S.; FUNK, J. A.; FERDOKA-CRAY, P. J.; JONES, F. T. The Role of Contaminated Feed in the Epidemiology and Control of *Salmonella enterica* in Pork Production. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 1, n. 4, p. 202-215, 2004.

DENAGAMEGE, T. N.; O'CONNOR, A. M.; SARGEANT, J. M.; RAJIC, A.; McKEAN, J. D. Efficacy of Vaccination to Reduce Salmonella Prevalence in Live and Slaughtered Swine: A Systematic Review of Literature from 1979 to 2007. **Foodborne and Pathogens Disease**, v. 4, n. 4, p. 539-549, 2007.

DOHERR, M. G. e AUDIGÉ, L. Monitoring and Surveillance for rare health-related eventos: a review from the veterinary perspective. **The Royal Society**, v. 365, p. 1097-1106, 2001.

DOHOO, I.; MARTIN, W.; HENRIK, S. **Veterinary Epidemiologic Research**. 1º ed. Prince Edward Island: AVC Inc. 2003. Cap 2: Sampling p. 27-49.

DOYLE, M. E.; KASPAR, C.; ARCHER, J.; KLOS, R. White paper on human illness caused by Salmonella from all food and non-food vectors. **FRI Briefings**, 51p., 2009.

EFSA, European Food Safety Authority. EFSA explains zoonotic diseases - Salmonella. 2013. Disponível em: http://ec.europa.eu/food/index_pt.htm. Acessado em: 12/11/2013.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Circular Técnica 50. **Boas Práticas de Produção de Suínos**. Concórdia, 2006.

FANGMAN, T. J.; HARDIN, L. E.; GRELLNER, G.; CARLSON, M. S.; ZULOVICH, J. M.; COLEMAN, J. L. Performance and disease status of pigs grown in a wean-to-finish facility compared to pigs grown in a conventional nursery and grower-finisher facility. **Journal of Swine Health and Production**, v. 9, n. 2, p. 71-76, 2001.

FEASEY, N. A.; DOUGAN, G.; KINGSLEY, R. A.; HEYDERMAN, R. S.; GORDON, M. A. Invasive non-typhoidal salmonella disease: an emerging and neglected tropical disease in Africa. **The Lancet**, v. 30, p. 2489-2499, 2012.

FUNK, J. A.; DAVIES, P. R.; NICHOLS, M. A. The effect of fecal sample weight on detection of Salmonella enterica in swine feces. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 12, p. 412-418, 2000.

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

GABARDO, M. P.; ZANDONAI, A. D.; CAMARGO, M. C.; GAVA, A.; CRISTANI, J.; TRAVERSO, S. D. Caracterização sanitária de suínos criados em sistema “*Wean-to-finish*”. **Medicina Veterinária**, v. 7, n. 3, p. 23-31, 2013.

GAGGIÀ, F.; MATTARELLI, P.; BIAVATI, B. Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. **International Journal of Food Protection**, v. 141, p. 525-528, 2010.

GOOD, L. The effects of Actigen® and Threonine supplementation on growth parameters, immune function, and intestinal health in monogastrics. **Master Degree Thesis**. University of Kentucky, 118p., 2013.

GRIFFITH, R. W.; SCHWARTZ, K. J.; MEYERHOLZ, D. K. Salmonellosis. In: STRAW, B. E.; ZIMMERMAN, J. J.; D’ALLAIRE, S.; TAYLOR, D. J. (Ed). **Disease of Swine**. 9 ed. Ames: Blakwell Publishing, p. 739-754, 2006.

GRIMONT, P. A. D.; WEILL, F. X. **Antigenic formulae of the Salmonella Serovars**: World Health Organization Collaborating Center for Reference and Research on Salmonella. 9. ed. Paris:Institut Pasteur, 2007.

HAESEBROUCK, F.; PASMANS, F.; CHIERS, K.; MAES, D.; DUCATELLE, R.; DECOSTERE, A. Efficacy of vaccines against bacterial diseases in swine: what can we expect?. **Veterinary Microbiology**, v. 100, p. 255-268, 2004.

HESSING, M. J. C.; TIELEN, M. J. M. The effect of climatic environment and relocating and mixing on health status and productivity of pigs. **Animal Production**, v. 59, p. 131-139, 1994.

HIRSH, D. C. *Enterobacteriaceae: Salmonella*. In: HIRSH, D. C.; MacLACHLAN, N. J.; WALKER, R. L. (Org.). **Veterinary Microbiology**. 2 ed. Ames: Blackwell Publishing, 2004. P. 69-74.

HOLT, J.G., KRIEG, N.R., SNEATH, P.H.A., STALEY, J. T.; WILLIAMS, S. T. (Eds.). **Bergey's manual of determinative bacteriology**. 9.ed. Baltimore : Williams & Wilkins, 1994. Cap.5: Facultative anaerobic Gram-negative rods: p.175-189.

HOLT, P. S. Host Susceptibility, Resistance and Immunity to *Salmonella* in Animals. In: WRAY, C.; WRAY, A. (Eds). **Salmonella in domestic animals**. Wallingford: CABI Publishing, 2000. Cap. 5, p. 73-87.

HOOGE, D. M.; KIERS, A.; CONNOLLY, A. Meta-analysis Summary of Broiler Chicken Trials with Dietary Actigen™ (2009-2012). **International Journal of Poultry Science**, v. 12, n. 1, p.1-8, 2013.

HURD, H. S.; GAILEY, J. K.; McKEAN, J. D.; ROSTAGNO, M. H. Experimental rapid infection in market swine following exposure to a *Salmonella* contaminated environment. **Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift**, v.114, p. 382-384, 2001.

HURD, H.S.; McKEAN, J.D.; GRIFFITH, R.W.; WESLEY, I.V.; ROSTAGNO, M.H. *Salmonella enterica* infections in market swine with and without transport and holding. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, p. 2376-2381, 2002.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção da Pecuária Municipal. 2011. v. 39.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo Agropecuário Nacional. 2012. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pecua/default.asp?t=2&z=t&o=24&u1=1&u3=1&u4=1&u5=1&u6=1&u7=1&u2=33>. Acessado em: 4/12/2013.

ISHIHARA, N.; CHU, D. C.; AKACHI, S.; JUNEJA, L. R.; Preventive Effect of Partially Hydrolyzed Guar Gum on Infection of *Salmonella Enteritidis* in Young Laying Hens. **Poultry Science**, v. 79, p. 689-697, 2000.

KICH, J. D.; BOROWSKY, L. M.; SILVA, V. S.; RAMENZONI, M.; TRIQUES, N.; KOOLER, F. L.; CARDOSO, M. R. I. Avaliação da atividade antibacteriana de seis desinfetantes comerciais frente a amostras de *Salmonella* Typhimurium isoladas de suínos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32, n.1, p. 33-39, 2004.

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

KICH, J. D., SCHWARZ, P., SILVA, E., L., COLDEBELLA, A., PIFFER, I. A., VIZZOTTO, R. & CARDOSO, M. R. I. Development and application of an enzyme-linked immunosorbent assay to detect antibodies against prevalent *Salmonella* serovars in swine in southern Brazil. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. v. 19, n. 5, p. 510-517, 2007.

KICH, J. D.; COLDEBELLA, A.; MORÉS, N.; NOGUEIRA, M. G.; CARDOSO, M. R. I.; FRATAMICO, P. M.; CALL, J. E.; FERDOKA-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.

KRANKER, S.; ALBAN, L.; BOES, J.; DAHL, J. Longitudinal Study of *Salmonella enterica* Serotype Typhimurium Infection in Three Danish Farrow-to-Finish Swine Herds. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 46, n. 6, p. 2282-2288, 2003.

LETTELIER, A.; MESSIER, S.; LESSARD, L.; CHÉNIER, S.; QUESSY, S. Host response to various treatments to reduce *Salmonella* infections in swine. **The Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 65, p. 168-172, 2001.

LIBUCHI, R.; HARA-KUDO, Y.; HASEGAWA, A.; KUMAGAI, S. Survival of *Salmonella* on a polypropylene surface under dry conditions in relation to biofilm-formation capability. **Journal of Food Protection**, n. 8, p. 1408-1510, 2010.

LO FO WONG, D. M. A.; HALD, T.; VAN DER WOLF, P. J.; SWANENBURG, M. Epidemiology and control measures for *Salmonella* in pigs and pork. **Livestock Production Science**, v. 76, p. 215-222, 2002.

MACIOROWSKI, K. G.; HERRERA, P.; JONES, F. T.; PILLAI, S. D.; RICKE, S. C. Cultural and Immunological Detection Methods for *Salmonella* spp. In Animal feeds – A Review. **Veterinary Research Communications**, v. 30, p. 127-137, 2006.

MACFARLANE, G. T.; CUMMINGS, J. H. Probiotics and Prebiotics: can regulating the activities of intestinal bacteria benefit health? **Western Journal of Medicine**, v. 171, n. 3, p. 187-191, 1999.

MANNION, C.; EGAN, J.; LYNCH, B. P.; FANNING, S.; LEONARD, N. An Investigation into the Efficacy of Washing trucks Following the Transportation of Pigs- A *Salmonella* Perspective. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 5, n. 3, p. 261-271, 2008.

MASTROENI, P.; CHABALGOITY, J. A.; DUNSTAN, S. J.; MASKELL, D. J.; DOUGAN, G. *Salmonella*: Immune Responses and Vaccines. **The Veterinary Journal**, v. 161, p. 132-164, 2000.

MERLE, R.; KÖSTERS, S.; MAY, T.; PORTSCH, U.; BLAHA, T.; KREIENBROCK, L. Serological *Salmonella* monitoring in German pig herds: Results of the years 2003-2008. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 99, p. 229-233, 2011.

MORAN, C. A. Functional components of the cell wall of *Saccharomyces cerevisiae*: applications for yeast glucan and mannan. In: Nutritional biotechnology in the feed and food industries, Kentucky, 2004. **Proceedings of Alltech's 20th Annual Symposium: re-imagining the feed industry**: Lexington, USA, 2004 p. 283-296.

MOUSING, J.; THODE JENSEN, P.; HALGAARD, C.; BAGER, F.; FELDT, N.; NIELSEN, B.; NIELSEN, J. P.; BECH-NIELSEN, S. Nation-wide *Salmonella enterica* surveillance and control in Danish slaughter swine herds. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 29, p. 247-261, 1997.

MÜLLER, M.; SCHWARZ, P.; KICH, J. D.; CARDOSO, M. R. I. Perfil sorológico e de isolamento de *Salmonella* sp. em suínos no início da terminação e ao abate. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 3, p. 931-937, 2009.

NIELSEN, B.; BAGGESEN, D.; BAGER, F.; HAUGEGAARD, J.; LIND, P. The serological response to *Salmonella* serovars Typhimurium and Infantis in experimentally infected pigs. The time course followed with an indirect anti-LPS ELISA and bacteriological examinations. **Veterinary Microbiology**, v. 47, p. 205-218, 1995.

OCHOA, I. M. F.; RODRÍGUEZ, A. V.; Mecanismos moleculares de patogenicidad de *Salmonella* sp. **Revista Latinoamericana de Microbiología**, v. 47, n.1-2, p. 25-42, 2005.

OMC - Organização Mundial do Comércio. Acordo para a Aplicação das Medidas Sanitárias e Fitossanitárias. Organização Mundial do Comércio, 1995. Disponível em: <http://www.worldtradelaw.net/uragreements/spsagreement.pdf>. Acessado em outubro de 2013.

PELLEGRINI, D. C. P. Avaliação de pontos de contaminação por *Salmonella* sp. e coliformes totais durante o preparo de dietas para suínos. **Tese de Doutorado**, UFRGS, 147p., 2012.

- PERALTA, W. Sistema destete venta en Chile. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 36, s. 1, p.131-136, 2008.
- PIRES, S.M.; VIGRE, H.; MAKELA, P.; HALD, T. Using outbreak data for source attribution of human salmonellosis and campylobacteriosis in Europe. **Foodborne Pathogens Disease**, v.7, p.1351-1361. 2010.
- POSSADAS, S. J.; CAZ, V.; CABALLERO, I.; CANDEJAS, E.; QUIOLEZ, I.; LARGO, C.; ELVIRA, M.; MIGUEL, E. Effects of mannanoprotein E1 in liquid dieta on inflammatory response and TLR5 expression in the gut of rats infected by *Salmonella Typhimurium*. **BMC Gastroenterology**, p.10-58, 2010.
- QUINN, P. J.; CARTER, M. E.; MARKEY, B.; CARTER, G. R. **Clinical Veterinary Microbiology**. Longon: Wolfe, 1994.
- RAJIC, A.; KEENLISDE, J.; McFALL, M. E.; DECKERT, A. E.; MUCKLE, A. C.; O'CONNOR, B. P.; MANNINEN, K.; DEWEY, C. E.; McEWEN, S. A. Longitudinal study of *Salmonella* species in 90 Alberta swine finishing farms. **Veterinary Microbiology**, v. 105, p. 47-56, 2005.
- ROOF, M. B.; KRAMER, T. T.; KUNESH, J. P.; ROTH, J. A. *In vivo* isolation of *Salmonella choleraesuis* from porcine neutrophils. **American Journal of Veterinary Research**, v. 53, p.1333-1336, 1992.
- ROSTAGNO, M.H.; HURD, H.S.; McKEAN, J.D. Split marketing as a risk factor for *Salmonella enterica* infection in swine. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 6, p. 865-869, 2009.
- SAS. 2012. Statistical Analysis System Institute Inc. SAS Institute, Inc. Cary NC.
- SCHWARZ, P.; HIROSEF,; KOLB, J.; CALVEYRA, J.; BARCELLOS, D. E. S. N.; CARDOSO, M. R .I. Longitudinal study of *Salmonella enterica* infection in a swine herd in southern Brazil. In: IPVS CONGRESS, 2006, Copenhagen. **Proceedings**. Iowa: IPVS, 2006.
- SCHWARZ, P.; CALVEYRA, J.; SELLA, M.; BESSA, M.; BARCELLOS, D. E. S. N.; CARDOSO, M. R.I. *Salmonella enterica*: isolamento e soroprevalência em suínos abatidos no Rio Grande do Sul. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n.5, p. 1028-1043, 2009.
- SCHWARZ, P. Estudo de fatores de risco e avaliação de vacinação para *Salmonella* sp. em diferentes sistemas de produção de suínos brasileiros. **Tese de Doutorado**, UFRGS, 110 p., 2009.
- SCHWARZ, P.; KICH, J. D.; KOLB, J.; CARDOSO, M. R. I. Use of an avirulent live *Salmonella Choleraesuis* vaccine to reduce the prevalence of *Salmonella* carrier pigs at slaughter. **Veterinary Record**, v. 169, 2011.

SHELOBOLINA, E. S.; SULLIVAN, S. A.; O'NEILL, K. R. NEVIN, K. P.; LOVLY, D. Isolation, characterization and U(VI)-reducing potential of a facultatively anaerobic, acid- resistant bacterium from low-pH, nitrate- and U(VI)-contaminated subsurface sediment and description of *Salmonella subterranea* sp. **Applied and Environmental Microbiology**, v.70, n.5, p. 2959-2965, 2004.

SHINOHARA, N. K. S.; BARROS, V. B.; JIMENEZ, S. M. C.; MACHADO, E. C. L.; DUTRA, A. F.; LIMA FILHO, J. L. *Salmonella* spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 13, n. 5, p. 1675-1683, 2008.

SILVA, L. E.; GOTARDI, C. P.; VIZZOTTO, R.; KICH, J. D.; CARDOSO, M. R. I. Infecção por *Salmonella enterica* em suínos criados em um sistema integrado de produção do sul do Brasil. **Arquivo Brasileiro de Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 4, p. 455-461, 2006.

SILVA, L. E.; DIAS, V.; FERRONATTO, A. I.; GUERRA, P.; BERNO, L.; TRICHES, N.; KICH, J. D.; CORBELLINI, L. G.; CARDOSO, M. R. I. Longitudinal dissemination of *Salmonella enterica* clonal groups through the slaughter process of *Salmonella*-positive pig batches. **Journal of Food Protection**, v. 75, n.9, p. 1580-1588, 2012.

STÄRK, K. D. C.; WINGSTRAND, A.; DAHL, J.; MOGELMOSE, V.; LO FO WONG, D. M. A. Differences and similarities among experts' opinions on *Salmonella enterica* dynamics in swine pre-harvest. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 53, p. 7-20, 2002.

SWANENBURG, M.; URLINGS, H. A. P.; SNIJDERS, J. M. A.; KEUZENKAMP, D. A.; VAN KNAPEN, F. *Salmonella* in slaughter pigs: prevalence, serotypes and critical control points during slaughter in two slaughterhouses. **International Journal of Food Microbiology**, v. 70, p. 243-254, 2001.

VAN DER GAG, M. A.; BACKUS, G. B. C.; HUIME, R. B. M. Epidemiological and economics effects of *Salmonella* control in the pork production chain. In: International Symposium on the Epidemiology and Control of *Salmonella* in Pork, 3rd, 1999, Washington D.C. **Proceedings**, 1999, p. 231-236.

VUGIA, D. J.; SAMUEL, M.; FALEY, M. M.; MARCUS, R.; SHIFERAW, B.; SHALOW, S.; SMITH, K.; ÂNGULO, F. J. Invasive *Salmonella* infections in the United States, FoodNet, 1996-1999: incidence, serotype distribuion, and outcome. **Clinical and Infectious Disease**, v. 3, s. 1, p. 49-56, 2004.

WALLIS, T. S. *Salmonella* pathogenesis and immunity: we need effective multivalent vaccines. **Veterinary Journal**, v. 161, p. 104-106, 2001.

WERGENER, H. C.; Hald, T.; LO FO WONG, D.; MADSEN, M.; KOSGAARD, H.; BAGER, F.; GENE-SMIDT, P.; MOLBACK, K. *Salmonella* Control Programs in Denmark. **Emerging and Infectious Disease**, v. 9, n. 7, p.774-780, 2003.

WHO - World Health Organization. Media Center, *Salmonella* non Typhoidal. Face sheet N° 139. 2013. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/en/index.html>. Acessado em: 25/11/2013.

WINFIELD, M. D.; GROISMAN, E. A. Role of nonhost environments in the lifestyle of *Salmonella* and *Escherichia coli*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, n. 7, p. 3687-3694, 2003.

ZOETENDAL, E. G.; COLLIER, C. T.; KOIKE, S.; MACKIE, R. I.; GASKINS, H. R. Molecular Ecological Analysis of the Gastrointestinal Microbiota: A Review. **The Journal of Nutrition**, v. 134, n. 2, p.465-472, 2004.

ANEXOS

Anexo I - Check list de BPP

Verificação durante o período de produção

1. Varáveis avaliadas	30 dias		60 dias		90 dias	
	sim	não	sim	não	sim	Não
1.1 Possui registro de entrada de pessoas na granja						
1.2 Possui roupas e calçados disponíveis para os técnicos e visitantes						
1.3 Os empregados trocam os calçados e a roupa quando entram na granja						
1.4 Os empregados lavam as mãos quando entram na granja						
1.5 A farmácia está limpa e organizada						
1.6 As agulhas e seringas estão limpas e acondicionadas adequadamente						
1.7 O pé de lúvio está com desinfetante líquido em boas condições na entrada da granja						
1.8 Medir a temperatura ambiental na altura dos leitões						
1.9 As baias estão limpas						
1.10 Possui ração no piso das baias						
1.11 Os comedouros estão limpos						
1.12 Os bebedouros estão limpos						
1.13 O corredor está limpo						
1.14 Os equipamentos de limpeza (pá, vassoura, etc) em condições de uso e limpos						
1.15 Quantidade média de moscas no corpo dos animais: 1= até 10; 2 = + de 10 moscas e 3 = incontável						
1.16 Qual o nível de cloro na água, ppm						
1.17 Qual o pH da água						
1.18 A cerca da periferia da granja impede o acesso de outros animais						
1.19 Há evidencia de circulação de outros animais ao redor das instalações no perímetro interno da granja						

1.20 A grama ao redor da granja está cortada						
1.21 Existem entulhos ao redor da granja						
1.22 Existem sinais ativos da presença de ratos (fezes, trilhas, tocas, etc.)						
1.23 A câmara de compostagem de carcaça está sendo bem manejada						
1.24 A granja separa os animais refugos de outros em baias hospital						
1.25 A baia hospital é manejada adequadamente (lotação 1,5m ² /animal, confortável, limpa, etc.)						
1.26 Os animais sem condições de recuperação são mantidos na baia hospital						

Anexo II - Metodologia de coleta de suabe de carcaça

1. Posicionar o gabarito de papel nos pontos de coleta: lombo, papada, pernil e barriga conforme demonstração abaixo.
2. Esfregar a esponja (posicionada no sentido horizontal) sobre a área delimitada por 10 vezes no sentido vertical;
3. Logo após, esfregar a esponja (posicionada no sentido vertical) sobre a área delimitada por 10 vezes no sentido horizontal;
4. Utilizando-se o outro lado da esponja, esfregar realizando o mesmo procedimento acima descrito. Este procedimento deve ser feito igualmente para todos os pontos de coleta: lombo, papada, pernil e barriga:

