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

Prevalência e Perfil de Resistência aos Antimicrobianos dos Sorovares de *Salmonella* sp Isolados das Carcaças de Frango e Peru na Região Sul do Brasil no Período de 2004 a 2006

Dissertação de Mestrado

André Luiz Bagolin Palmeira

PORTO ALEGRE
2007

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

Prevalência e Perfil de Resistência aos Antimicrobianos dos Sorovares de *Salmonella* sp Isolados das Carcaças de Frango e Peru na Região Sul do Brasil no Período de 2004 a 2006

Autor: André Luiz Bagolin Palmeira
Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias na Área de Medicina das Aves do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias da UFRGS.
Orientador: Prof. Dr.Vladimir Pinheiro do Nascimento

PORTO ALEGRE
2007

P172p Palmeira, André Luiz Bagolin

Prevalência e perfil de resistência aos antimicrobianos dos sorovares de Salmonella sp isolados das carcaças de frango e peru na Região Sul do Brasil no período de 2004 a 2006. / André Luiz Bagolin Palmeira. – Porto Alegre: UFRGS, 2007.

55 f.; il. – Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, RS-BR, 2007. Vladimir Pinheiro do Nascimento, Orient.

1. Salmonella: resistência a drogas: aves comestíveis de criação 2. Salmonella: proteína priônica I. Nascimento, Vladimir Pinheiro do, Orient. II. Título.

CDD 619.44

Catalogação na fonte: Biblioteca da Faculdade de Veterinária da UFRGS

DEDICATÓRIA

“Ao meu Senhor Jesus que nunca falha”

“A minha preciosa família, Mara (esposa), Natália (filha) e meus pais André e Ivone”.

AGRADECIMENTOS

Ao meu grande amigo *Halan* que não somente me ajudou a realizar este trabalho, mas passou comigo alguns momentos difíceis desta dissertação.

Ao meu orientador, prof. *Vladimir P. Nascimento*, pela confiança e oportunidade de me deixar desenvolver este trabalho.

A minha amiga *Anderlise*, que não mediu esforço para me ajudar, me incentivar a concluir este trabalho.

A meus queridos *irmãos da Igreja Cristã Maranata*, pelo incentivo e pelas orações.

A *Ana Paula* e a *Josi*, pela confiança em me ceder o Laboratório Didático do SENAI – Chapecó – SC, onde realizei este trabalho. A *Ingridi Tomazelli*, do LANAL – SENAI /SC, por todo apoio e ajuda no suporte logístico, e também a *Carla* que mui gentilmente preparou vários materiais para os testes de antibiograma. E a toda equipe do SENAI Chapecó.

A Tuca (*Rosângela*) da UNIVATES, pela prontidão em me ceder várias amostras para conclusão deste trabalho, e a toda sua equipe que também nos ajudou.

Aos laboratórios das empresas agropecuárias que me cederam parte das amostras para realização deste trabalho.

Aos meus colegas da Inspeção Federal, SIF 104/SC, pelo apoio e incentivo nos estudos.

A Dra.*Eliane* do FIOCRUZ, que soube ser profissional e me enviou os resultados das sorotipificações em tempo hábil, sem os quais esta pesquisa ficaria inacabada.

A UFRGS, e as nossas secretárias, *Maria, Vera, Simone, e Joce* que nos ajudaram nestes anos desde a época de aluno especial.

André Luiz Bagolin Palmeira

PREVALÊNCIA E PERFIL DE RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS DOS SOROVARES DE *Salmonella* sp ISOLADAS DAS CARCAÇAS DE FRANGO E PERU NA REGIÃO SUL DO BRASIL NO PERÍODO DE 2004 A 2006

Aprovada em 28/02/2007

APROVADO POR:

_____

Prof. Dr. VLADIMIR PINHEIRO DO NASCIMENTO
Orientador e Presidente da Comissão

_____

Prof. Dr. ELCI LOTAR DICKEL (UPF)
Membro da Comissão

_____

Prof. Dr.HAMILTON LUIZ DE S. MORAES (UFRGS)
Membro da Comissão

_____

Prof. Dra. MARISTELA LOVATO FLÔRES (UFSM)
Membro da Comissão

RESUMO

A *Salmonella* sp permanece com um dos mais importantes patógenos transmissores de enfermidades veiculadas através dos alimentos em todo mundo. A carne de aves está entre as principais causadoras das toxinfecções alimentares quando contaminadas pelo gênero *Salmonella*. Neste estudo foram isolados 280 sorovares de *Salmonella* das carcaças de frango e peru através do Programa de Redução de Patógenos (PRP-MAPA) na região sul do país. A maior prevalência ocorreu para a *Salmonella* Enteritidis (55,7%). Nas carcaças de frango, a *S.* Enteritidis alcançou 63,3% dos isolados, porém nas carcaças de peru este sorovar não passou dos 14,0%. Entre os estados do sul (PR, SC e RS), não houve diferenças nos isolados de *S.*Enteritidis. Foram 25 os sorovares de *Salmonella* sp isolados das carcaças de aves. Destes apenas 14 em perus e 23 nos frangos. A *S.* Tennessee e *Salmonella enterica* subespecie *enterica* (O: 4,5), foram isoladas somente em carcaças de perus e a *S.* Hadar foi a mais prevalente, 18,6%. Nos testes de difusão em placas, foram desafiadas 178 cepas frente a 24 antimicrobianos. Todas as cepas de *Salmonella* sp foram resistentes a bacitracina e a penicilina e 78,2% apresentaram resistência a pelo menos um antimicrobiano quando excluídas as drogas anteriormente citadas, sendo que todas as amostras foram sensíveis a amoxicilina + ácido clavulânico, polimixina B, ciprofloxacina e norfloxacina. A maior taxa de resistência das amostras foi observada frente ao ácido nalidíxico de 52,2%, seguido da nitrofurantoína (28,8%), neomicina (14,6), tetraciclina (12,4%) e canamicina (10,1%). Nas amostras isoladas de perus estes índices foram maiores para o ácido nalidíxico (62,8%), tetraciclina (34,9%) e neomicina (30,2%), havendo diferenças significativas para os dois últimos quando comparados aos isolados de frango. Embora o índice de resistência a enrofloxacina de 2,2% no segmento aves seja baixo, chama atenção que, por tratar-se de um antimicrobiano quimicamente modificado a taxa de resistência nas amostras de perus tenha sido de 9,3%.O sorovar *S.* Enteritidis apresentou a maior taxa de resistência ao ácido nalidíxico (72,0%) e menor para tetraciclina (1,1%). Por outro lado, foi comprovada a presença de cepas multiresistentes em 46,1% dos isolados das carcaças de aves, principalmente nas amostras de perus nos sorovares *S.* Hadar e *S.* Saintpaul, que foram resistentes no mínimo a quatro e no máximo onze antimicrobianos. Este estudo demonstrou qual a prevalência e o perfil de resistência aos antimicrobianos dos sorovares de *Salmonella* sp isoladas das carcaças de aves na região Sul do Brasil e devido a sua importância em saúde animal e saúde pública, pode sugerir a criação de um Programa Nacional de Monitoramento da Resistência Bacteriana aos Antimicrobianos.

Palavras-chaves: Antimicrobianos, frango, multiresistência, peru, *Salmonella*, resistência, PRP, MAPA.

ABSTRACT

Salmonella sp remains as one of the most important foodborne pathogens worldwide. Poultry meat is among the most frequently involved foods regarding human food poisoning cases. In this study, two hundred and eighty Salmonella isolates were detected from broiler and turkey carcasses submitted to the Brazilian Ministry of Agriculture, Livestock and Supply (MAPA)´s Pathogens Reduction Program (PRP-MAPA) in Southern Brazil. Twenty five Salmonella serovars were isolated in the poultry carcasses, being 14 in turkey and 23 in broilers. The most prevalent serovar was Salmonella Enteritidis *(57,7%). In broiler carcasses, S.* Enteritidis *reached a 63,3% prevalence, while in turkeys carcasses this serovar presented a comparatively lower index (14,0%). Among the Brazilian Southern States (PR, SC and RS) there were no significative differences in the percentage of isolated S.* Enteritidis*. S.* Tennessee *and Salmonella enterica subspecies enterica (O: 4,5) were isolated in turkeys, but not in broiler carcasses. S.* Hadar *was most prevailing in turkeys (18,6%). Regarding the diffusion test applied to 178 isolates, they were challenged against 24 antimicrobials. As expected, all isolates were resistant to bacitracin and penicillin, while 78,2% presented resistance to at least one antimicrobial drug when the ones above were excluded. All samples were sensitive to amoxicillin + clavulanic acid, polymixin B, cyprofloxacin and norfloxacin. The highest resistance rate was observed against nalidixic acid (52,2%), followed by nitrofurantoin (28,8%), neomycin (14,6%), tetracycline (12,4%) and canamycin (10,1%). In turkeys the rates were higher to nalidixic acid (62,8%), tetracycline (34,9%) and neomycin (30,2%) showing significant differences for the latter two when compared to the ones isolated in broilers. S.* Enteriditis *isolates showed a higher resistance to nalidixic acid (72,0%) and lower to tetracycline (1,1%). Presence of multiresistant isolates was proven in 46,1% of the isolated poultry carcasses, mainly in the turkey samples related to the presence of S.* Hadar *and S.* Saintpaul *serovars, which were resistant to at least four to a maximum of eleven antimicrobials. This study was able to demonstrate the prevalence and the antimicrobial resistance profile of Salmonella serovars isolated from poultry carcasses in Southern Brazil. These findings reinforce the need for the creation of a National Antimicrobial Resistance Monitoring Programme in Brazil, which will be able to contribute to an overdue controlled use of these drugs in food producing animals.*

Keywords: Salmonella, turkeys, broilers, antimicrobial resistance, multiresistance.

SUMÁRIO

RESUMO 1

ABSTRACT 2

1. INTRODUÇÃO 5

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 7

2.1. Produção Avícola Brasileira e sua Importância no Cenário Internacional. ... 7

2.2. *Salmonella* sp 9

2.3. A Problemática em torno da *Salmonella* sp na Avicultura Mundial e suas Repercussões na Saúde Pública 11

2.3.1. Resistência aos Antimicrobianos - *Salmonella* sp de Origem Animal 12

2.3.2. Resistência aos Antimicrobianos - *Salmonella* sp de Origem Humana 14

2.3.3. Resistência aos Antimicrobianos - Sorovares de *Salmonella* sp Isolados de Carcaças de Aves 16

2.3.4. Programa de Redução de Patógenos em Carcaças de Frango e Peru do MAPA 18

3. MATERIAL E MÉTODOS 20

3.1. Local de Realização das Análises e Amostragem 20

3.1.1. Local de Realização das Análises 20

3.1.2. Amostragem 20

3.2. Perfil de Resistência a Antimicrobianos 21

3.2.1. Seleção das Amostras 21

3.2.2. Seleção dos Antimicrobianos 22

3.2.3. Amostra Padrão 22

3.2.4. Teste de Antibiograma 23

3.2.5. Leitura dos Halos de Inibição dos Antimicrobianos 24

3.3. Análise Estatística dos Resultados 24

4. RESULTADOS 25

4.1. Ocorrência de *Salmonella* sp em Carcaças de Frango e Peru no PRP 25

4.2. Prevalência dos Principais Sorovares de *Salmonella* sp em Carcaças de Aves do PRP 26

4.2.1. Prevalência dos Principais Sorovares de *Salmonella* sp por Espécie de Ave do PRP 27

4.3. Número de Amostras de *Salmonella* sp Isoladas no PRP para Realização dos Testes de Antibiograma 28

4.4. Perfil de Resistência dos Sorovares de *Salmonella* sp Isolados das Carcaças de Aves do PRP 29

4.4.1 Perfil de Resistência dos Sorovares de *Salmonella* sp Isolados das Carcaças por Espécie de Ave (frango e peru) do PRP 30

4.5. Análise Estatística do Perfil de Resistência dos sorovares de *Salmonella* Isolados das Carcaças de Aves do PRP 32

5. DISCUSSÃO 37

6. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES 48

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 50

1. INTRODUÇÃO

A salmonelose pode constituir-se em uma das mais graves enfermidades aviárias quando os sorovares espécie - específico das aves estão presente nos plantéis avícolas. Os sorovares mais patogênicos para as aves são a *Salmonella* Gallinarum e a *Salmonella* Pullorum. Os prejuízos ocasionados por esta bactéria, não somente afeta aqueles lotes de aves contaminados, como podem causar graves problemas à saúde humana, a exemplo do surto de salmonelose (*Salmonella* Enteritidis) determinado pela ingestão de ovos contaminados, na década de 80 na Inglaterra (McILROY, 1997). E também do risco potencial que estes microrganismos podem possuir em carrear algum gene de resistência às drogas antimicrobianas.

A salmonela permanece entre os agentes patogênicos de maior impacto econômico na avicultura e saúde pública. Questões como resistências às drogas antimicrobianas são assuntos de interesse global, pois vários sorovares estão sendo isolados tanto de produtos de origem animal (principalmente em produtos avícolas), como nos surtos em humanos, sendo que muitas vezes há correlação de sorovares entre as duas origens, envolvendo a *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Hadar, *Salmonella* Heidelberg ou outros sorovares encontrados em diversos países da Europa, Ásia, e das Américas (SOLARI, 1995; WHO, 1997).

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), sensibilizado pelas questões ligadas ao comércio exterior para países cujas exigências vão ao limite de tolerância zero de *Salmonella* sp em produtos cárneos e com o fornecimento de um alimento mais seguro para o consumidor brasileiro, resolveu no ano de 2003 propor conjuntamente com as empresas do setor avícola a elaboração de um plano que reduzisse a presença de *Salmonella* sp nos produtos avícolas. Em abril de 2004, iniciou-se o Programa de Redução de Patógenos (PRP) em carcaças de aves (frangos e perus), editada em outubro de 2003, conforme a Instrução Normativa nº70 (BRASIL, 2003b).

A partir desta instrução os abatedouros com Serviço de Inspeção Federal (SIF) de aves no Brasil devem possuir o PRP implantado na sua rotina, onde as amostras de carcaças de aves são analisadas em Laboratório Acreditado pelo MAPA ou Laboratório Reconhecido (pertencente à própria indústria), assim gerando vários isolamentos de *Salmonella* sp para composição de um banco de dados epidemiológico deste agente.

A problemática em torno da salmonela poderá ser ainda maior se o perfil de resistência destes diferentes sorovares de *Salmonella* sp for aumentando a cada ano pelo uso indevido das drogas veterinárias na alimentação animal ou nos tratamentos das enfermidades entéricas. Todo este cuidado deve ser dirigido ao longo da cadeia produtiva, desde as bisavós, avós, matrizes e frangos, para evitar os abusos no uso destes antimicrobianos, como estão sendo constatados por vários pesquisadores (AARESTRUP, 1999; CARRAMIÑANA *et al*., 2004), que têm encontrado além destas similaridades, algumas cepas multiresistentes, inclusive as drogas de última geração como as cefalosporinas e fluorquinolonas.

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo estabelecer a prevalência e o perfil da resistência aos antimicrobianos frente as amostras de *Salmonella* sp isoladas de carcaças de aves (frangos e perus) do PRP da região Sul do país. Tal perfil poderá demonstrar frente à quais antimicrobianos os microrganismos tem desenvolvido resistência desde a implantação do PRP e servir como ferramenta útil para consulta dos técnicos que atuam no setor, oferecendo a oportunidade de decidir sobre o uso racional destas drogas, assim ajudando a controlar o aumento da resistência destes microrganismos aos antimicrobianos, os quais podem ser possíveis carreadores de genes de resistência cruzada com outros sorovares de *Salmonella* sp envolvidos nos casos de salmonelose de origem humana.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Produção Avícola Brasileira e sua Importância no Cenário Internacional.

A avicultura brasileira vem crescendo de forma constante nos últimos anos, assumindo a primeira posição no cenário mundial como o maior exportador de carnes de aves em 2004. A partir de então o Brasil tornou-se um expoente tanto pelos seus índices técnicos como pela rapidez em adequar-se as necessidades dos países para os quais vem exportando seus produtos avícolas, conquistando e abrindo novos mercados. O ano de 2005 entrou para a história como um período de grande evolução da produção avícola brasileira e com destaque, pelas exportações. Foram registrados avanços importantes do setor avícola no desenvolvimento de programas sanitários e de monitoria garantindo a qualidade e sanidade do produto brasileiro. No período, a avicultura brasileira produziu 9,3 milhões de toneladas de carne de frango, 350 mil toneladas de carne de peru e 24,6 bilhões de unidades de ovos, além de carnes e produtos de outras espécies avícolas, conforme Figura 1.

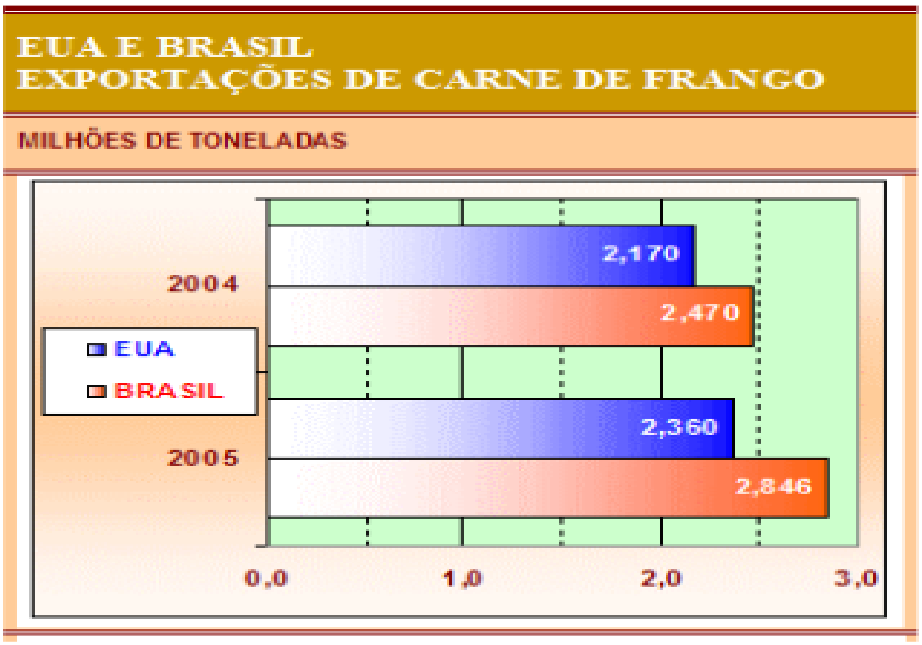

FIGURA 1 – Comparação das exportações de carne de frango dos EUA x Brasil nos anos 2004 e 2005. Fonte: Avisite (2006)

As exportações de carne de frango para os 142 países, alcançaram à receita cambial correspondente a US$3,5 bilhões, 35% maior do que no ano anterior em valor, e 15% maior em volume. O notável incremento das exportações não retirou do mercado interno a condição de maior consumidor da produção brasileira. O consumo per capita foi 35,4 kg. Já em 2006, as alterações no mercado internacional, onde se observava a possibilidade de redução no consumo de carne de aves em importantes destinos de nossos produtos avícolas de forma mais dramática, devido ao surto de influenza aviária em várias partes da Ásia e alguns países da Europa, não ocorreram, ao invés o que se viu foi uma queda e em seguida uma retomada das exportações permanecendo o país como o maior exportador mundial de carnes de frango (UBA, AVISITE, 2006), como demonstrado na Tabela 1.

TABELA 1 – Evolução das exportações brasileiras de carnes de frangos, mensalmente desde 2002 até 2006.

MESES	**2002**	**2003**	**2004**	**2005**	**2006**
JAN/JUN	613,5	912,6	1110,3	1316,3	1184,8
JUL	139,6	135,5	205,9	254,8	178,2
AGO	140,4	193,7	252,6	255,7	285,7
SET	245,1	189,5	210,1	247,7	200,4
OUT	185,9	157,3	219,3	250,1	242,6
NOV/DEZ	275,1	333,2	426	437,1	493,5
TOTAL	**1.599,9**	**1.922,0**	**2.424,5**	**2.761,9**	**2.585,7***

* Este volume foi maior que dos EUA no mesmo período. Fonte: Avisite (2006).

Foram confirmadas as previsões realizadas pela USDA – Departamento de Agricultura dos EUA, que em 2006 o Brasil tornar-se-ia um dos maiores exportadores mundial de carne de peru. Na previsão anterior, feita em novembro de 2005, o USDA estimava que a União Européia exportasse em 2006 cerca de 210 mil toneladas de carne de peru, mas devido aos surtos de influenza em alguns dos países membros, houve uma queda, o que veio a favorecer um novo recorde nas exportações brasileiras acima de 180 mil toneladas de produtos “in natura” e industrializados. O Brasil passou a ocupar uma posição de elite entre os maiores exportadores de carnes de aves, como segundo maior exportador de carnes de peru (AVISITE, 2006).

O trabalho do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) tem sido fundamental para que a avicultura brasileira alcance a excelência na sanidade dos plantéis avícolas, zelando pela qualidade e confiabilidade do produto brasileiro, como também é de suma importância, para a segurança e a garantia da produção e exportação, e para a viabilidade econômica do setor, que sejam implantados com urgência programas como: Programa de Regionalização Sanitária da Avicultura Brasileira, que está inserido no Plano Nacional de Prevenção da Influenza Aviária e Controle e Prevenção da Doença de Newcastle (garantindo a manutenção de nossas exportações mesmo na ocorrência de eventos sanitários em algum estado brasileiro); Programa Nacional de Controle de Resíduos (já existente, porém estava com pouca abrangência para exigência de alguns mercados, como o Europeu, e atualmente está sendo adequado); Programa de Redução de Patógenos em Carcaças de Aves (PRP - existente e em aperfeiçoamento), monitorando apenas um agente microbiológico, a *Salmonella* sp, sendo que o próximo microrganismo monitorado será a *Escherichia coli* (UBA, 2006).

Apesar de possuir uma avicultura moderna, a cada ano o país enfrenta uma nova ameaça para as exportações através das barreiras não tarifárias, mesmo assim têm conseguido superar em todos os aspectos, as imposições criadas pelos países importadores, não somente seguindo regras impostas, mas também trabalhando na prevenção de doenças e controlando os excessos por vezes causados pelas indústrias que querem suprir suas necessidades de comercializarem seus produtos avícolas. O governo e as empresas devem estar vigilantes para não incorrerem em erros como o uso inadequado e exagerado de agentes antimicrobianos em aves, ou permitir a presença de patógenos, como a *Salmonella* sp, nos produtos avícolas que inviabilizem as exportações (DELAZARI, 2002).

2.2. *Salmonella* sp

Salmonella sp é um microrganismo ubíquo, por esta razão tem sido difícil o seu controle. Este gênero obteve seu nome inspirado no cientista que o descobriu, Dr. Salmon (SNOEYEMBOS, 1984).

A primeira descrição considerada pertencente ao gênero *Salmonella* foi notificada por Ebert em 1880, quando recuperou de baço e linfonodos humanos acometidos de febre tifóide, uma bactéria a qual denominou de *Bacterium typhosa*.

Pouco tempo depois Smith e Salmon, a partir de isolados de suínos, identificaram mais um bacilo do gênero e designaram de *Bacillus cholera suis*. Em 1888, Gärtner, isolou outra bactéria de um jovem com sinais clínicos de gastroenterite, e chamou de *Bacillus enteritidis* (BARROW, 1993). Com o passar dos anos o gênero começou a ser tornar mais conhecido e os isolamentos aconteciam tanto nos homens como nos animais.

Os representantes do gênero *Salmonella* são bacilos curtos pertencentes à família *Enterobacteriaceae*, Gram negativos, não esporulados, na sua maioria flagelada, aeróbia ou anaeróbia facultativos, fermentadores da glicose, descarboxiladores de aminoácidos e outros açúcares. Esta caracterização bioquímica é importante para diferenciação de alguns sorovares, como a *Salmonella* Gallinarum e *Salmonella* Pullorum que são imóveis. São mesófilos, crescendo a temperaturas que podem variar de 5 a 45°C, o pH ideal está em torno de 7, mas suportam alguns extremos, de 4 a 9. As colônias em ágar apresentam tamanho de 2-4 mm, bordas lisas e arredondadas (BERCHIERI JÚNIOR, 2000).

São 2541 sorovares de *Salmonella* sp que contaminam os homens e animais, estas foram classificadas em duas espécies: (I) *Salmonella* ***enterica*****,** a qual está dividida em seis subespecies: *Salmonella enterica* subsespecie ***enterica*** (1504)**,** *Salmonella enterica* subsespecie ***salamae*** (502)*, Salmonella enterica* subsespecie ***arizonae*** (95)*, Salmonella enterica* subsespecie ***diarizonae*** (333)*, Salmonella enterica* subsespecie ***houtenae*** (72)*, Salmonella enterica* subsespecie ***indica*** (13) e (II) *Salmonella enterica* subsespecie ***bongori*** (22). Desta forma as espécies e subespécies são denominadas de sorotipos ou sorovares de *Salmonella* (POPOFF *et al.*, 2004).

Como são enterobactérias, possuem antígenos somáticos (O), flagelares (H) em uma ou duas fases, e pouco freqüente os antígenos de cápsula (K), conhecidos como Vi, por esta razão elas podem ser diferenciadas sorologicamente. Estas divisões formam a base de classificação do antigo esquema de Kauffmann-White, alterado por uma fórmula antigênica proposta por Michel Popoff, em que as letras são correlacionadas com números, e mantidas provisoriamente dentro dos parênteses permanecendo desta forma: O: 4 (B); antígenos somático 4, que antes era B. Ou então, O: 9:1,4,12 (D), somático 9, e flagelar 1, 4 e 12 (POPOFF, 2001). A tendência é que o antigo esquema de sorogrupos seja substituído.

2.3. A Problemática em torno da *Salmonella* sp na Avicultura Mundial e suas Repercussões na Saúde Pública

A presença da *Salmonella* sp em produtos avícolas tornou-se uma das maiores problemáticas da avicultura mundial. Desde o século XIX, quando foi reconhecido pela primeira vez que o gênero *Salmonella* causava doenças em aves, apenas dois representantes do grupo tinham importância na avicultura, a *Salmonella* Gallinarum e *Salmonella* Pullorum. No entanto, as perdas por essas doenças (tifo aviário e pulorose respectivamente), foram sendo controladas (SILVA; DUARTE, 2002). Com o passar dos anos outras salmonelas foram sendo descobertas e, atualmente, existem mais de 2540 sorovares (sorotipos) pertencentes ao grupo das paratifóides segundo Popoff et al. (2004). Mesmo assim, o número de sorovares que poderiam contaminar as aves ficaria próximo a 150 (HOFER, 1985).

Entre as salmonelas que contaminam as aves e são transmitidas para os seres humanos existem vários sorovares em comum, mas apenas um pequeno número é capaz de causar um quadro de zoonose; prefiguram entre os principais sorovares de *Salmonella* transmitidos por alimentos de origem animal (aves), a: *Salmonella enterica* subspecie *enterica sorovar* Enteritidis ou *Salmonella* Enteritidis (*S.* Enteritidis), *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Agona, *Salmonella* Hadar e *Salmonella* Heidelberg (ANTUNES *et al.*, 2003).

Nas décadas de 80 e 90 alguns países, como Inglaterra, registraram graves surtos de toxinfecções alimentares em humanos por *Salmonella* sp, especialmente *Salmonella* Enteritidis, e eventualmente, *Salmonella* Typhimurium, que na maioria dos casos os produtos cárneos de aves e ovos foram responsáveis (McILROY, 1997).

No Brasil, estes surtos iniciaram-se também a partir da década 90, com maior intensidade, sendo o sorovar *Salmonella* Enteritidis, o principal causador, antes desta época prevalecia outro sorovar, a *Salmonella* Typhimurium. (TAVECHIO *et al.*, 1996).

Os produtos alimentícios de origem animal podem constituir-se na principal fonte de transmissão de *Salmonella* sp e as carcaças de aves podem ser contaminadas freqüentemente durante o processo de abate tornando assim a carne de aves a causa

mais comum apontada nos surtos em humanos, descritas por vários autores (LIRIO *et al*., 1998; NASCIMENTO, 1995; UYTTENDAELE *et al.*, 1989).

Mas além destes transtornos entéricos, existe a possibilidade destes microrganismos carrearem outro risco eminente, a resistência aos antimicrobianos, que poderá ser transmitida através dos sorovares de *Salmonella* sp presentes nos alimentos contaminados, promovendo uma resistência cruzada pelos sorovares de origem animal para humanos, tornando assim a problemática ainda maior (AARESTRUP, 1999).

2.3.1. Resistência aos Antimicrobianos – *Salmonella* sp de Origem Animal

O interesse pela pesquisa em torno da resistência da *Salmonella* sp aos antimicrobianos utilizados nos animais veio somente a partir da década de 60 quando alguns pesquisadores, como Anderson (1968), começaram a associar que estas poderiam ser co-responsáveis pela resistência encontrada também nas salmonelas em surtos humanos. Pouco tempo depois, McGarr *et al.* (1974) constatou que os mesmos sorovares de *Salmonella* isolados das aves estavam entre os 10 principais sorovares isolados de salmoneloses em humanos no Canadá, como também demonstrou que o sorovar *Salmonella* Typhimurium foi 58,3% resistente à tetraciclina, antibiótico usado com freqüência nos tratamentos das afecções entéricas humanas.

Entretanto, Greenfield; Bankier (1969), foram quem possivelmente pela primeira vez tenham relatado a presença de resistência aos antimicrobianos nas amostras de *Salmonella* isoladas de perus nos Estados Unidos, no período de 1965 a 1967, que segundo os autores dos 15 sorovares de *Salmonella* isolados 99% foram sensíveis a nitrofurantoína, 86% ao cloranfenicol e todas as amostras foram resistentes a eritromicina e penicilina. Eles também trabalharam com amostras de enterobactérias, com resultados semelhantes nos antibiogramas, porém as 35 amostras de Arizona sp isoladas de casos clínicos todas foram sensíveis a neomicina.

Novos trabalhos foram sendo realizados por diversos grupos de pesquisadores em torno da resistência dos sorovares de *Salmonella* e de outras enterobacteriáceas aos diferentes antimicrobianos utilizados com freqüência na terapêutica ou na alimentação

animal. Os sorovares mais prevalentes isolados de origem animal e seus produtos foram *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium e *Salmonella* Hadar, dependendo do país e da espécie animal, o objetivo de cada trabalho era o mesmo, relatar o perfil da resistência destes sorovares frente aos diferentes antimicrobianos utilizados na medicina veterinária (BREUIL *et al.*, 2000; CRUCHAGA *et al.*, 2001; SOLER *et al.*, 2006)

Na Holanda, Duijkeren *et al.* (2003), demonstraram que a *Salmonella* Typhimurium no início da década de 80 era mais resistente nos bovinos que nas aves, as seguintes drogas, tetraciclina, cloranfenicol, ampicilina, trimetoprim e canamicina, porém em 2001 novos testes realizados não houve aumento da resistência na espécie bovina, que diminuiu, no entanto as aves tiveram um aumento de 20% para a tetraciclina, cloranfenicol e ampicilina no mesmo período. E o fagotipo mais importante de *S.* Typhimurium isolado foi o DT 104, por apresentar multiresistência a pelo menos 5 diferentes antimicrobianos.

Na Espanha, Cruchaga *et al.* (2001), obtiveram 34 e 40% nos isolados de alimentos a base de frango, aos respectivos sorovares *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Hadar, e 34% de *Salmonella* Typhimurium nos alimentos a base de carne suína, durante o ano de 1998. A *Salmonella* Hadar foi quem apresentou maior percentual de amostras multiresistentes, acima de 50%.

Breuil *et al.* (2000), trabalharam na França com 13.397 isolados de *Salmonella* de origem animal, durante os anos de 1994 e 1997, sendo o mais prevalente a *Salmonella* Typhimurium (41 e 35%), depois a *Salmonella* Enteritidis (28 e 12%) e a terceira *Salmonella* Hadar (3 e 17%), mas apenas um sorovar foi usado para verificar o perfil de resistência fenotípica, a *Salmonella* Typhimurium, que das 163 amostras analisadas apenas 12 não foram multiresistentes a 5 ou mais drogas e a maior resistência foi encontrada para o sorovar *Salmonella* Hadar nos seguintes antimicrobianos, tetraciclina (91%) e ácido nalidíxico (72%).

Quando a pesquisa envolve toda a cadeia produtiva avícola o número de sorovares de *Salmonella* isolados tende a ser mais diversificado, segundo Roy *et al.* (2002), que trabalharam com isolados a partir de aves, ambientes, instalações e produtos avícolas nos EUA, obtendo 569 amostras positivas de *Salmonella* das 4745 amostras

analisadas. A Tabela 2 apresenta a relação dos sorovares mais prevalentes e seus resultados frente aos antimicrobianos testados.

TABELA 2 - Perfil de resistência aos antimicrobianos frentes aos diferentes sorovares de *Salmonella* isolados dos produtos avícolas nos EUA.

Sorovar *Salmonella*	Sorogrupo	Número de positivo / %	Antimicrobianos	
			100% Resistente	> 90% Sensível
S. Heidelberg	B	25 / 26	Er, Li, Pen	Sx, Sr, Cft
S. Kentucky	C_3	21 / 22	Er, Li, Pen	Ge, Sx, Sr, Cft, S
S. Montivideo	C_1	11 / 11	Er, Li, Pen	Sx, Te, Sr, Cft
S. Hadar	C_2	5 / 5	Er, Li, Pen	Ge, Sx, Te, Sr, Cft, S
S. Enteritidis	D	5 / 5	Er, Li, Pen	Ge, Sx, Sr, Cft, S
S. Infantis	C_1	4 / 4	Er, Li, Pen	Ge, Sx, Te, Sr, Cft, S
S. Typhimurium	B	3 / 3	Er, Li, Pen	Ge, Sx, Te, Sr, Cft, S
S. Ohio	C_1	4 / 4	Er, Li, Pen	Ge, Sx, Te, Sr, Cft, S
S. Thompson	C_1	4 / 4	Er, Li, Pen	Ge, Sx, Te, Sr, Cft, S
S. Mbandaka	C_4	4 / 4	Er, Li, Pen	Ge, Sr, Cft

Er = Eritromicina, Li = Lincomicina, Ge = Gentamicina, Sx = Sulfametoxazol + trimetoprim, Te = Tetraciclina, Pen = Penicilina, Sr = Sarafloxacina, Cft = Ceftiofur, S = Sulfonamida tripla. Fonte: ROY *et al.* (2002).

2.3.2. Resistência aos Antimicrobianos – *Salmonella* sp de Origem Humana

A resistência bacteriana aos diferentes antimicrobianos na medicina humana despertou o interesse desde que se iniciou a pesquisa para entender a relação droga – microrganismo havendo relatos datados de 1950, em que uma cepa de *Shigella* sp apresentou resistência a um antimicrobiano de uso comercial em humanos e que somente veio a ser estudada ao redor dos anos 60, demonstrando também a presença de multiresistência a outras drogas testadas. Em meados da década de 90, a resistência dos

microrganismos aos antimicrobianos emergiu como um dos maiores tópicos concernentes à saúde pública, devido às dificuldades encontradas pela medicina no tratamento de certas doenças, especialmente as infecções hospitalares, causando um aumento do custo nos tratamentos e no uso de antibióticos de última geração (MORENO *et al.*, 2000).

Como a *Salmonella* sp tem sido um dos patógenos mais isolados nos casos de toxinfecções alimentares (NASCIMENTO, 1995), não é de admirar que vários autores, tenham se dedicado a estudar este agente de forma mais específica e atentado para o perfil de resistência que elas têm expressado através dos genes de diferentes sorovares existentes na natureza.

Nos relatos de Soler *et al.* (2006), estudando mais de 5700 isolados de *Salmonella* sp de origem humana na Espanha, durante os anos 2001 a 2003, demonstram que a resistência aos antimicrobianos foi maior frente ao ácido nalidíxico (49,9%), e para o sorovar mais prevalente, a *Salmonella* Enteritidis (60,4%), seguida da *Salmonella* Typhimurium (20,9%) e da *Salmonella* Hadar (2,5%).Tais sorovares, também demonstraram antimicrobianos 70, 90 e 92% de resistência às drogas ampicilina, estreptomicina e tetraciclina. Nas amostras de *Salmonella* Hadar, 68,7% apresentaram multiresistência a quatro ou mais antimicrobianos.

Na França, Breuil *et al.* (2000), comparando os isolados de *Salmonella* sp de origem humana com os de origem animal, verificou que o sorovar mais resistente foi a *Salmonella* Hadar, frente ao ácido nalidíxico em ambas as origens, nos anos de 1994 (70 e 91%) e 1997 (72 e 91%), e que os demais sorovares também foram resistentes a ampicilina, amoxicilina + ácido clavulânico, tetraciclina, e cloranfenicol.

Apesar de pouco freqüente, os sorovares de *Salmonella* sp além de apresentarem multiresistência a várias classes de antimicrobianos, existem uns que possuem a capacidade de produzirem beta-lactamases de espectro ampliado (ESBLs ou BLEAs), estas betalactamases formam um grande grupo de enzimas que são capazes de hidrolisar o anel betalactâmico de penicilinas, cefalosporinas e monobactâmicos (antibióticos betalactâmicos). A produção de ESBL é mediada por plasmídeos que conferem ampla resistência aos antimicrobianos que contém o anel betalactâmico em sua estrutura e agem neste anel betalactâmico rompendo-o e inativando desta forma o antibiótico. A

Escherichia coli e *Klebsiella pneumoniae* são as espécies bacterianas mais comumente encontradas produzindo ESBL, a detecção destas enzimas já foi observada em diversas outras espécies de *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonadaceae,* (SOUSA *et al.*, 2004), e a presença destas enzimas dificultam ainda mais o tratamento naqueles pacientes acometidos por salmoneloses gastrintestinais, como foi no caso descrito por Hammami (1991 apud CARDINALE *et al.* 2001), na Tunísia envolvendo a *Salmonella* Wien.

Um trabalho importante está sendo realizado há vários anos pelo Governo Dinamarquês, através do Programa de Pesquisa e Monitoria da Resistência Antimicrobiana de Ação Integrada da Dinamarca (DANMAP), onde são exibidos os dados estatísticos da resistência às drogas antimicrobianas encontradas nos alimentos fornecidos para os animais (rações), nos produtos alimentícios de origem animal e nos casos de toxinfecções alimentares em humanos frente aos diferentes agentes etiológicos das zoonoses ocorridas, além disto, está relatado o consumo de cada droga utilizada no país, seja na área veterinária como na área médica. A *Salmonella* Typhimurium foi a que mais estava presente nos isolados de aves, com 30%, seguida da *Salmonella* Infantis (20%), porém a salmonela de maior incidência em humanos foi a *Salmonella* Enteritidis (36%), seguida da *Salmonella* Typhimurium (30%). Neste mesmo relatório foi feita uma comparação da resistência aos antimicrobianos frente à *Salmonella* Enteritidis de origem aviária (carne de frango) e humana (toxinfecção alimentar), onde as drogas mais resistentes para este sorovar foram o ácido nalidíxico e a ciprofloxacina (DANMAP, 2004).

Existem países que estão realizando um trabalho mais intenso para coibir o uso indiscriminado das drogas antimicrobianas evitando assim o aumento da resistência e as medidas de controle para conter tais abusos, como vem sendo realizado não só na Dinamarca como também na Suécia, Finlândia, França, Espanha e Alemanha (MORENO *et al.*; MARTEL *et al.*; STOCK; WIEDEMANN 2000).

2.3.3. Resistência aos Antimicrobianos – Sorovares de *Salmonella* sp Isolados de Carcaças de Aves

Há quase meio século, criadores começaram a utilizar antibióticos no alimento de animais que eram engordados para o mercado de “galinheiros de contensão”, onde

estas drogas antimicrobianas ajudavam a reduzir o número de bactérias e as infecções causadas por elas, controlando sua disseminação nas condições de confinamento que vivia aquelas aves e promovendo um efeito acelerador no crescimento animal, tornando cada vez mais intenso o uso destes "promotores" nas rações, o que levou a indústria de medicamentos a produzir mais da metade das drogas usadas nos EUA para o consumo na alimentação animal (TORTORA *et al.*, 2003).

Apesar do uso de diferentes drogas há vários anos na alimentação animal, especialmente para as aves, isto não impediu a propagação da *Salmonella* para os plantéis avícolas, onde as carnes de aves, ovos e seus derivados, estão entre os maiores transmissores da contaminação por *Salmonella* veiculados por alimentos ao homem. Através das análises de carcaças de aves vários autores isolaram sorovares de *Salmonella* resistentes a diferentes antimicrobianos usados como promotores de crescimento nas rações animais ou na terapêutica de enfermidades entéricas das aves (CHANG, 2000; SANTOS *et al.* 2000; CARRAMIÑANA *et al.*, 2004; CARDOSO *et al.*, 2006; SINGER; HOFACRE, 2006; CORTEZ *et al.*, 2006).

Santos *et al.* (2000), cientes do problema em torno da transmissão de *Salmonella* sp e observando o aumento no consumo *per capita* de carne de aves no Brasil, realizaram um trabalho com carcaças de frangos congeladas para investigar a presença de *Salmonella* sp, obtendo um percentual de 32,0% de positividade. Nas 48 amostras analisadas, estabeleceram um perfil da resistência aos diversos antimicrobianos, demonstrando que apenas duas drogas, o cloranfenicol e a sulfazotrim, tiveram sensibilidade total frente aos diferentes sorovares de *Salmonella* isolados das carcaças de aves. Concluíram que o uso indiscriminado dos antibióticos nos tratamentos das infecções das aves tem contribuído para a emergência de resistência entre os diferentes sorovares de *Salmonella* e outras bactérias, corroborando na possível resistência cruzada com os patógenos humanos.

Nos achados de Cardoso *et al.* (2006) foi demonstrado que a resistência aos diferentes antibióticos frente aos isolados de *Salmonella* Enteritidis obtidos nas carcaças de frango eram 100% resistentes a colistina, eritromicina, novobiocina e tetraciclina, observando que nenhuma das amostras de *Salmonella* Enteritidis foi resistente a ciprofloxacina, gentamicina, norfloxacina, polimixina B, sulfazotrim e sulfametrim, durante os anos de 1995 e 1996.

Estudo semelhante realizado no Sul do país, com isolados de *Salmonella* Enteritidis das carcaças de frango, no período de 1995 a 1997, relataram que apenas a ciprofloxacina foi sensível a todas as amostras analisadas e a sulfonamida apresentou 75% de resistência segundo Oliveira *et al.* (2005).

Cortez *et al.* (2006), identificaram oito sorovares de *Salmonella* das carcaças de frango resfriadas coletadas em abatedouros com SIF, sendo a mais prevalente a *Salmonella* Kentucky, em segundo a *Salmonella* Enteritidis, e dos doze antimicrobianos utilizados apenas a amicacina, ampicilina e aztreonam, obtiveram mais de 80% de resistência frente as 29 amostras de *Salmonella* isoladas dos vários estabelecimentos de abate.

Em 60 amostras de carcaças de aves (54 frangos e 6 perus), foram obtidos 60% de amostras positivas para *Salmonella*, destas 44% eram *Salmonella* Enteritidis, 28% *Salmonella* Hadar, e 8% *Salmonella* Virshow, sendo que das amostras de perus não foi isolada *Salmonella* Enteritidis, porém *Salmonella* Hadar. Do total destas amostras 75% foi resistente a um ou mais antimicrobianos e as duas drogas de maior resistência foram a tetraciclina e estreptomicina respectivamente nas 36 amostras analisadas, possuindo a *Salmonella* Saintpaul o maior perfil de multiresistência entre os sorovares isolados destes produtos em Portugal (ANTUNES *et al.,* 2003).

O conteúdo de um trabalho realizado na Alemanha demonstra ser o uso abusivo de certas drogas antimicrobianas na área veterinária determinante para o desenvolvimento de resistências às drogas, a exemplo das quinolonas, que tiveram um aumento expressivo da resistência ao ácido nalidíxico de 0,3% em 1994 para 14,4% em 1998, observada juntamente a diminuição da susceptibilidade a enrofloxacina nos tratamentos terapêuticos usados na avicultura (MALORNY *et al.*, 1999).

2.3.4. Programa de Redução de Patógenos em Carcaças de Frango e Peru do MAPA

Os constantes isolamentos de *Salmonella* sp em produtos cárneos e especificamente nas carcaças de frango e peru, passaram a exercer uma maior atenção

por parte das autoridades brasileiras, que dando a importância devida ao tema e as crescentes exigências do mercado externo, principalmente a Comunidade Européia (CE), elaboraram em conjunto com as empresas avícolas o Programa de Redução de Patógenos (PRP), que de acordo com a Instrução Normativa nº70, editada em 2003, prevê o monitoramento das carcaças de aves (frango e peru) de todos os abatedouros com Serviço de Inspeção Federal (SIF), sendo o objetivo reduzir o nível de contaminação dos patógenos existentes nos produtos avícolas, inicialmente a *Salmonella* sp (BRASIL, 2003b).

Com a aplicação do PRP as indústrias tiveram que buscar novos métodos de controle e redução da *Salmonella* sp em seus plantéis avícolas, entre eles a vacinação, as Boas Práticas de Produção (BPF), inclusive o uso de antibioticoterapia naqueles casos de doenças entéricas ou onde o lote foi considerado positivo para *Salmonella* sp em exames de suabes de arrasto nas matrizes ou até nos lotes de frango de corte. O PRP também prevê que a indústria ao ultrapassar o limite de 12 amostras positivas em um ciclo de 51 amostras analisadas, deverá rever o seu programa de BPF, os Procedimentos Padrões de Higiene Operacional (PPHO) e quando for reincidente pela segunda vez consecutiva, poderá ter a suspensão imediata da certificação pelo SIF do comércio dos produtos avícolas. Portanto, a efetiva e constante análise dos dados gerados pelo PRP facilitam a adoção de medidas preventivas, garantindo a inocuidade dos produtos avícolas (DELAZARI, 2002).

Este estudo propõe-se a estabelecer a prevalência e o perfil de resistência aos antimicrobianos frente às amostras de *Salmonella* sp isoladas de carcaças de aves (frangos e perus) do PRP da região Sul do país, tendo encontrado a partir dos experimentos descritos, os resultados que são apresentados no capítulo 4 (pág. 25).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local de Realização das Análises e Amostragem

3.1.1. Local de Realização das Análises

As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório Didático do SENAI – Chapecó. Localizado na região Oeste do Estado de Santa Catarina, sendo que todas as amostras de *Salmonella* sp isoladas das carcaças de frangos e perus entre os anos de 2004 e 2006, foram fornecidas por diferentes laboratórios da região Sul, pertencentes às empresas avícolas ou laboratórios credenciados. A sorotipificação foi realizada na Fundação Instituto Osvaldo Cruz (FIOCRUZ).

3.1.2. Amostragem

O total de amostras recebidas e cadastradas foram 541, que representaram em torno de 80% das empresas avícolas exportadoras da região Sul. Foram no mínimo 18 estabelecimentos agrupados por estado e a maioria codificados para manter o sigilo das informações. Estas foram acondicionadas em tubos ou frascos de vidros, na sua maioria contendo agar nutriente, como meio de conservação. Destas amostras 348 foram repicadas para confirmação de *Salmonella* sp em meio seletivo Agar Verde Brilhante (Marca Difco), incubadas a 37ºC por 24h. As colônias que apresentaram crescimento e características segundo a sua forma, consistência e coloração compatíveis com *Salmonella* foram semeadas em Plate Count Agar (Marca Difco), incubadas a 37ºC por 24h. Após o crescimento, uma colônia foi repicada em um novo ágar estoque (meio de conservação e transporte – a base de peptona de carne e extrato de levedura), em duplicata, devidamente identificadas com a data da coleta, local de procedência e espécie de ave. Destas amostras que estavam viáveis, foi possível o aproveitamento de 280, devido ao tempo restrito e condições para realização do trabalho. Então um dos repiques foi enviado a FIOCRUZ, no Rio de Janeiro, para sorotipificação de *Salmonella* sp e o outro frasco foi armazenado no laboratório a temperatura ambiente para realização posterior do antibiograma.

3.2. Perfil de Resistência aos Antimicrobianos

3.2.1. Seleção das Amostras

A partir deste banco de *Salmonella* sp contendo 280 amostras sorotipificadas, foram selecionadas, aleatoriamente, 178 amostras isoladas nos diferentes laboratórios da região sul, para realização dos antibiogramas. Foi mantida uma proporcionalidade entre o número de amostras de acordo com os anos (2004, 2005 e 2006) e estados da região Sul do Brasil, conforme as Figuras 2 e 3.

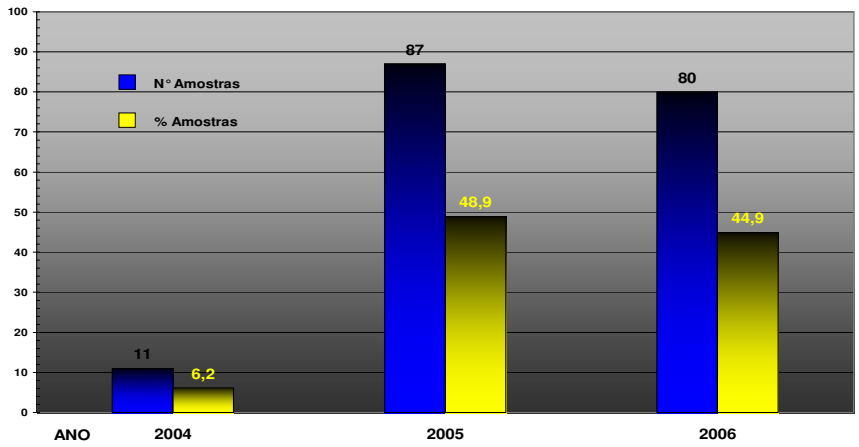

FIGURA 2 – Número e percentual de amostras de *Salmonella* sp que foram utilizados nos testes de antibiogramas de acordo com o ano em que foi obtido o isolamento da amostra.

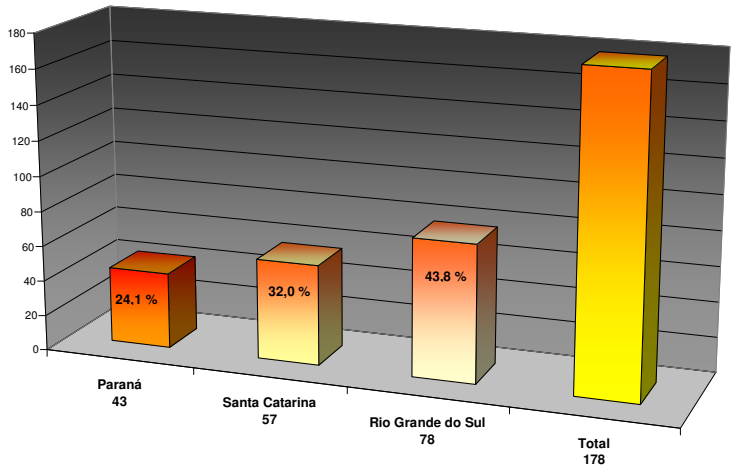

FIGURA 3 – Percentual e distribuição das amostras de *Salmonella* sp que foram utilizadas para os testes de antibiogramas de acordo com o estado da região Sul do país em que foi obtido o isolamento da amostra.

3.2.2. Seleção dos Antimicrobianos

Essas amostras foram submetidas à determinação do perfil qualitativo de resistência aos antimicrobianos, pelo método de discos de difusão idealizado por Bauer (1966), utilizando-se ágar Mueller Hinton (Difco, EUA)**.** Os antibióticos utilizados foram de acordo com as literaturas consultadas, e sua importância e uso na produção animal e na saúde pública: **ácido nalidíxico** (30µg); **ampicilina** (10µg); **amoxicilina + ácido clavulânico** (20 e 10µg); **cefalotina** (30µg); **ceftiofur** (30µg); **ciprofloxacina** (10µg); **cloranfenicol** (30µg); **colistina** (50µg); **cotrimoxazol** - sulfametoxazol + trimetoprim (25µg); **enrofloxacina** (10µg); **espectinomicina** (100µg); **estreptomicina** (10µg); **gentamicina** (10µg); **neomicina** (30µg); **nitrofurantoína** (25µg); **norfloxacina** (10µg); **penicilina G** (10U.I.); **polimixina B** (300U.I.); **sulfonamidas** (300µg); **tetraciclina** (30µg). Todos estes em forma de apresentação de discos da marca CEFAR (SP). Exceto o **aztreonam** (30µg); **bacitracina** (10U.I.); **canamicina** (30µg) e **fosfomicina** (25µg) que foram da marca CECON (SP), conforme Figura n° 4.

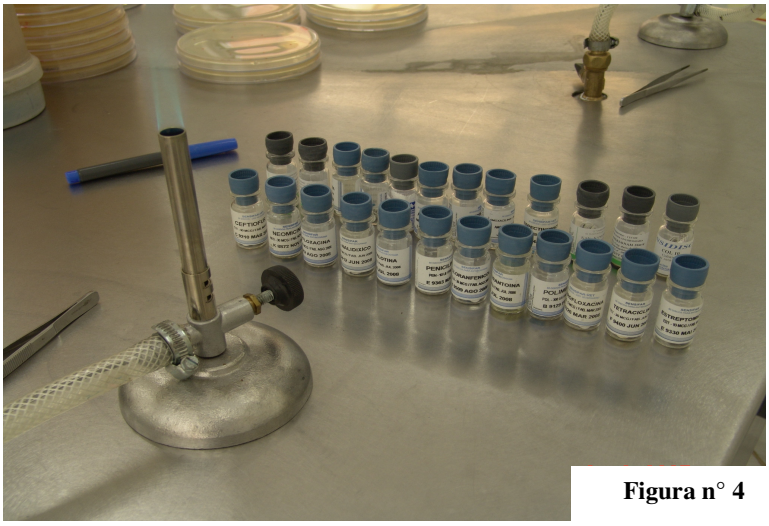

Figura n° 4

FIGURA N° 4 – Os vinte e quatro antimicrobianos usados no teste de antibiograma.

3.2.3. Amostra Padrão

Foi utilizada como controle de qualidade do teste, a amostra de referência *Escherichia coli* (ATCC 25922).

3.2.4. Teste de Antibiograma

Cada amostra bacteriana foi repicada em PCA, de onde foi coletada uma porção de massa bacteriana, que foi suspensa e homogeneizada em solução salina 0,85% estéril, sendo a turbidez da suspensão comparada à do padrão 0,5 da escala de McFarland. Por meio de suabes estéreis embebidos na suspensão bacteriana, cada amostra foi estriada em placas de Petri contendo ágar Mueller-Hinton em três direções, girando a placa em ângulo de 100° após cada estria. Antes da aplicação dos discos, as placas semeadas foram deixadas em cima da bancada por aproximadamente cinco minutos, para permitir que o excesso de umidade da superfície do ágar seja absorvido.

Os discos de antibióticos foram retirados da geladeira meia hora antes de sua aplicação e deixados em temperatura ambiente. A aplicação destes foi feita com auxílio de uma pinça estéril para evitar contaminação. Todos os discos foram pressionados suavemente para o contato total com a superfície do ágar. As distâncias de 30mm entre um disco e outro (centro a centro dos discos) e de 15mm da margem da placa foram mantidas, impedindo a superposição dos halos de inibição.(Figuras n°5, 6 e 7)

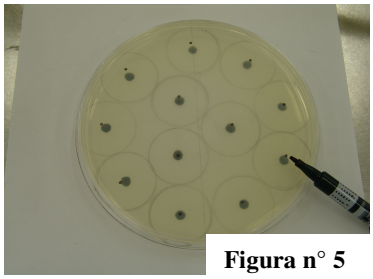

Figura n° 5

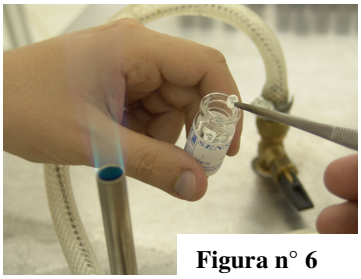

Figura n° 6

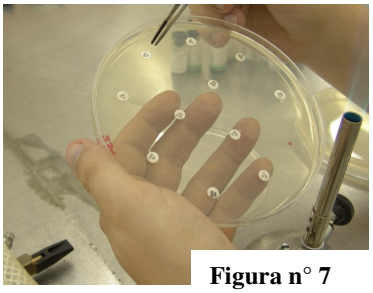

Figura n° 7

FIGURAS N° 5, 6 e 7 – Gabarito e aplicação dos discos de antimicrobianos na placa.

3.2.5. Leitura dos Halos de Inibição dos Antimicrobianos

Após 18 a 24 horas de incubação a 36°C ± 1°C, as placas foram examinadas para verificar se o crescimento obtido estava uniforme, se existia presença de contaminantes e se o diâmetro do halo de inibição estava bem definido. Após esta inspeção visual, a leitura foi realizada com o auxílio de um paquímetro ou halômetro, e então comparados com a tabela de desempenho padrão para os testes de susceptibilidade a antibióticos, sendo classificado como sensíveis ou resistentes (NCCLS, 2003), conforme demonstrado na Figura 8.

FIGURA N° 8 – Placa de antibiograma preparada para leitura.

As placas nas quais tiverem crescimento de colônias dentro do halo de inibição foram repicadas, identificadas e novamente testadas com o intuito de descartar a possibilidade de contaminação.

3.3. Análise Estatística dos Resultados

Os resultados foram analisados através do teste Qui-quadrado de independência e/ou do Exato de Fisher. Foi utilizado o programa SPSS for Windows versão 13.0 .

4. RESULTADOS

4.1. Ocorrência de *Salmonella* sp em Carcaças de Frango e Peru no PRP

Do total das 280 amostras de *Salmonella* sp isoladas das carcaças de frangos e perus do PRP na região Sul do país, foram sorotipificados 25 sorovares de *Salmonella*. Os dados obtidos estão demonstrados na Tabela 3.

TABELA 3 – Resultados das sorotipificações das amostras de *Salmonella* sp isoladas das carcaças de frango e peru do PRP na região Sul do país, no período 2004 a 2006.

PERUS	FRANGOS	AVES (Total)
Salmonella enterica subsp. enterica (O:4,5)		*Salmonella enterica subsp. enterica* (O:4,5)
Salmonella Agona	*Salmonella* Agona	*Salmonella* Agona
S. Anatum	*S.* Anatum	*S.* Anatum
	S. Braenderup	*S.* Braenderup
	S. Brandenburg	*S.* Brandenburg
	S. Bredeney	*S.* Bredeney
	S. Cerro	*S.* Cerro
	S. Corvallis	*S.* Corvallis
	S. Cubana	*S.* Cubana
S. Derby	*S.* Derby	*S.* Derby
S. Enteritidis	*S.* Enteritidis	*S.* Enteritidis
S. Hadar	*S.* Hadar	*S.* Hadar
S. Heidelberg	*S.* Heidelberg	*S.* Heidelberg
	S. Infantis	*S.* Infantis
	S. Mbandaka	*S* Mbandaka
	S. Minnesota	*S* Minnesota
	S. Montevideo	*S.* Montevideo
	S. Ohio	*S.* Ohio
S. Panamá	*S.* Panama	*S.* Panamá
S. Rissen	*S.* Rissen	*S.* Rissen
S. Saintpaul	*S.* Saintpaul	*S.* Saintpaul
S. Schwarzengrund	*S.* Schwarzengrund	*S.* Schwarzengrund
S. Senftenberg	*S.* Senftenberg	*S.* Senftenberg
S. Tennessee		*S.* Tennessee
S. Typhimurium	*S.* Typhimurium	*S.* Typhimurium
Total 14	23	25

4.2. Prevalência dos Principais Sorovares de *Salmonella* sp em Carcaças de Aves do PRP

Após a sorotipificação das amostras de *Salmonella* sp das carcaças de aves (frango e peru) o sorovar mais prevalente encontrado foi a *Salmonella* Enteritidis (55,7%), seguido da *Salmonella* Heidelberg (5,0%), *Salmonella* Agona (4,3%), *Salmonella* Bredeney (3,9%), *Salmonella* Hadar (3,2%), *Salmonella* Typhimurium (2,9%) e os outros sorovares demonstrados na Figura 9.

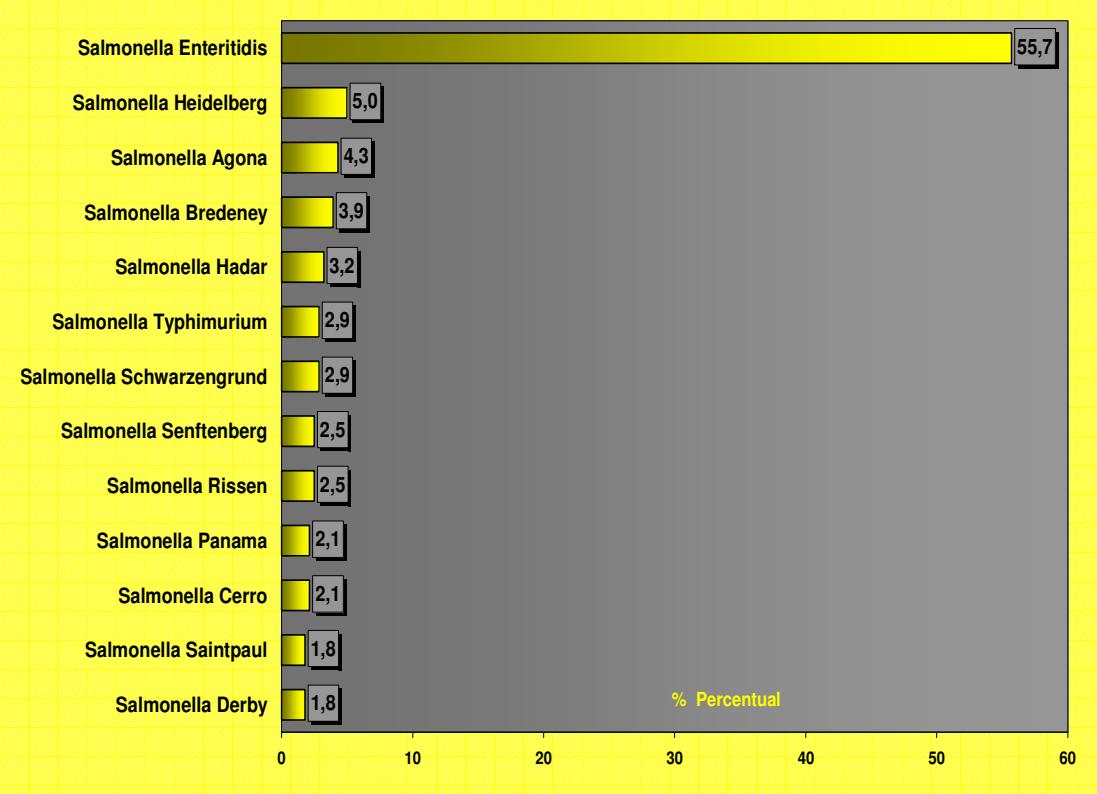

FIGURA 9 – Prevalência dos principais sorovares de *Salmonella* sp isolados das carcaças de aves do PRP na região Sul do país, durante os anos de 2004 a 2006.

A extrapolação de comparações de tendências de aumento ou redução da prevalência de quaisquer uns dos sorovares de ano para ano e de estado para estado não é justificável, tendo em vista o perfil e distribuição das amostras obtidas.

4.2.1. Prevalência dos Principais Sorovares de *Salmonella* sp por Espécie de Ave do PRP

Analisando as duas espécies de aves separadas, a *Salmonella* Hadar foi a mais isolada das carcaças de perus, com 18,6% do total das 43 amostras, seguida da *Salmonella* Enteritidis (14,0%) e *Salmonella* Agona (10,9%). Nas carcaças de frangos prevaleceu a *Salmonella* Enteritidis que alcançou 63,3% do total dos isolados, seguida da *Salmonella* Heidelberg (5,5%) e *Salmonella* Bredeney (4,6%). Os dados estão expressos na Figura 10.

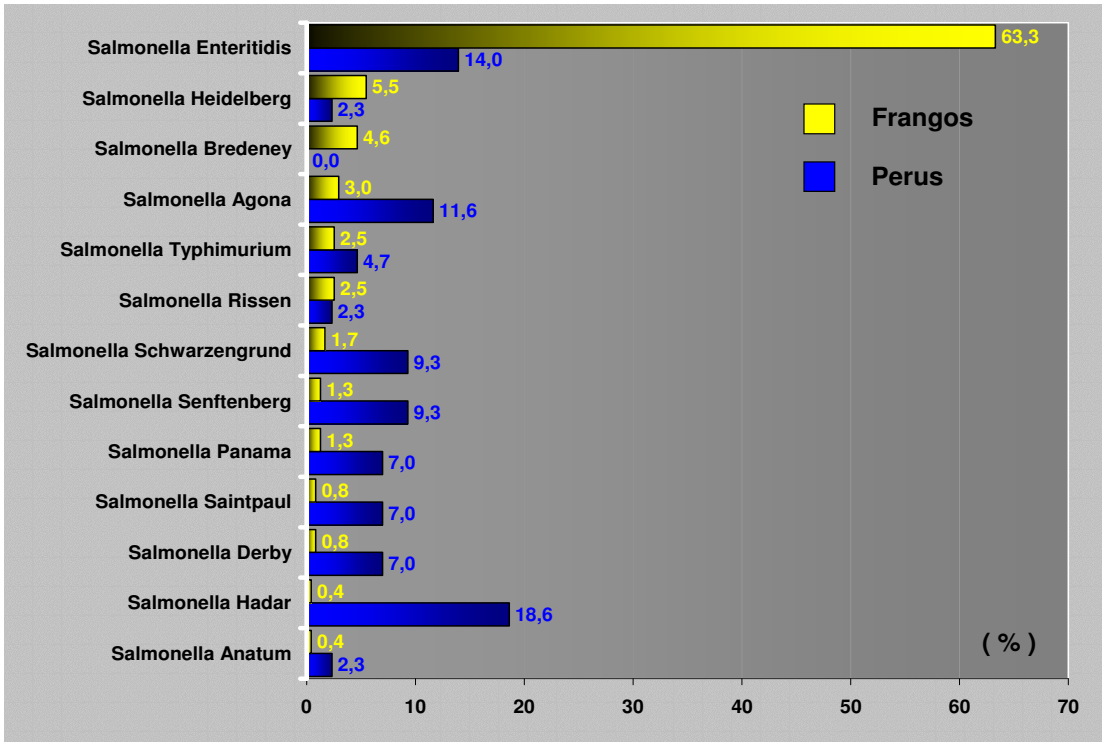

FIGURA 10 – Prevalência dos principais sorovares de *Salmonella* sp isolados das carcaças de frango e peru do PRP na região Sul do país, no período de 2004 a 2006.

Um dos sorovares, a *Salmonella* Hadar, foi isolado dentro do mesmo estado e no mesmo estabelecimento, em ambas as espécies de aves (frango e peru), sendo o único caso possível de ser rastreado, pois a maioria das amostras estava codificada por estado para manter o sigilo das informações.

4.3. Número de Amostras de *Salmonella* sp isoladas do PRP para Realização dos Testes de Antibiograma

Na composição do número de amostras de *Salmonella* sp para a realização dos testes de antibiogramas foram escolhidas aleatoriamente as 178 cepas de *Salmonella* sp isolados das carcaças de aves que estão demonstrados na Tabela 4 de acordo com o ano e espécie de ave.

TABELA 4 - Demonstrativo do número de sorovares de *Salmonella* sp isolados das carcaças de aves do PRP e sorotipificados de acordo com o ano do isolamento e espécie de ave para realização dos testes de antibiograma.

Sorovares de *Salmonella*	Ano/Peru			Ano/Frango			Total-Ano / Peru e Frango			Total/Peru e Frango
	2004	2005	2006	2004	2005	2006	2004	2005	2006	
S. Agona	0	4	1	0	5	0	0	9	1	**10**
S. Anatum	0	0	1	0	0	1	0	0	2	**2**
S. Braenderup	0	0	0	0	1	0	0	1	0	**1**
S. Brandenburg	0	0	0	0	0	3	0	0	3	**3**
S. Bredeney	0	0	0	1	3	1	1	3	1	**5**
S. Cerro	0	0	0	1	0	4	1	0	4	**5**
S. Corvallis	0	0	0	0	0	3	0	0	3	**3**
S. Cubana	0	0	0	0	0	1	0	0	1	**1**
S. Derby	0	2	1	0	1	1	0	3	2	**5**
S. Enteritidis	0	4	2	8	47	26	8	51	28	**87**
S. Hadar	0	7	1	0	0	1	0	7	2	**9**
S. Heidelberg	0	1	0	0	2	7	0	3	7	**10**
S. Infantis	0	0	0	0	3	1	0	3	1	**4**
S Mbandaka	0	0	0	0	0	1	0	0	1	**1**
S Minnesota	0	0	0	0	0	1	0	0	1	**1**
S. Montevideo	0	0	0	0	1	0	0	1	0	**1**
S. Ohio	0	0	0	0	0	2	0	0	2	**2**
S. Panama	0	0	3	0	0	2	0	0	5	**5**
S. Rissen	0	0	1	1	0	0	1	0	1	**2**
S. Saintpaul	0	1	2	0	0	0	0	1	2	**3**
S. Schwarzengrund	0	1	3	0	1	0	0	2	3	**5**
S. Senftenberg	0	3	1	0	1	1	0	4	2	**6**
S. Tennessee	0	1	0	0	0	0	0	1	0	**1**
S. Typhimurium	0	2	0	0	0	3	0	2	3	**5**
Salmonella O:4,5	0	1	0	0	0	0	0	1	0	**1**
Total		**43**			**135**			**178**		**178**

4.4. Perfil de Resistência dos Sorovares de *Salmonella* sp Isolados das Carcaças de Aves do PRP

Foram testados 24 antimicrobianos frente aos 178 cepas de *Salmonella* sp isoladas das carcaças de aves. Todas as amostras foram resistentes a pelo menos dois antibióticos, bacitracina e penicilina. Não foi encontrada nenhuma amostra resistente a amoxicilina + ácido clavulânico, ciprofloxacina, norfloxacina e polimixina B. Observou-se a resistência de 2,2% somente para uma das três fluorquinolonas utilizadas, a enrofloxacina. O perfil de resistência das amostras de *Salmonella* sp no PRP está evidenciado na Figura 11.

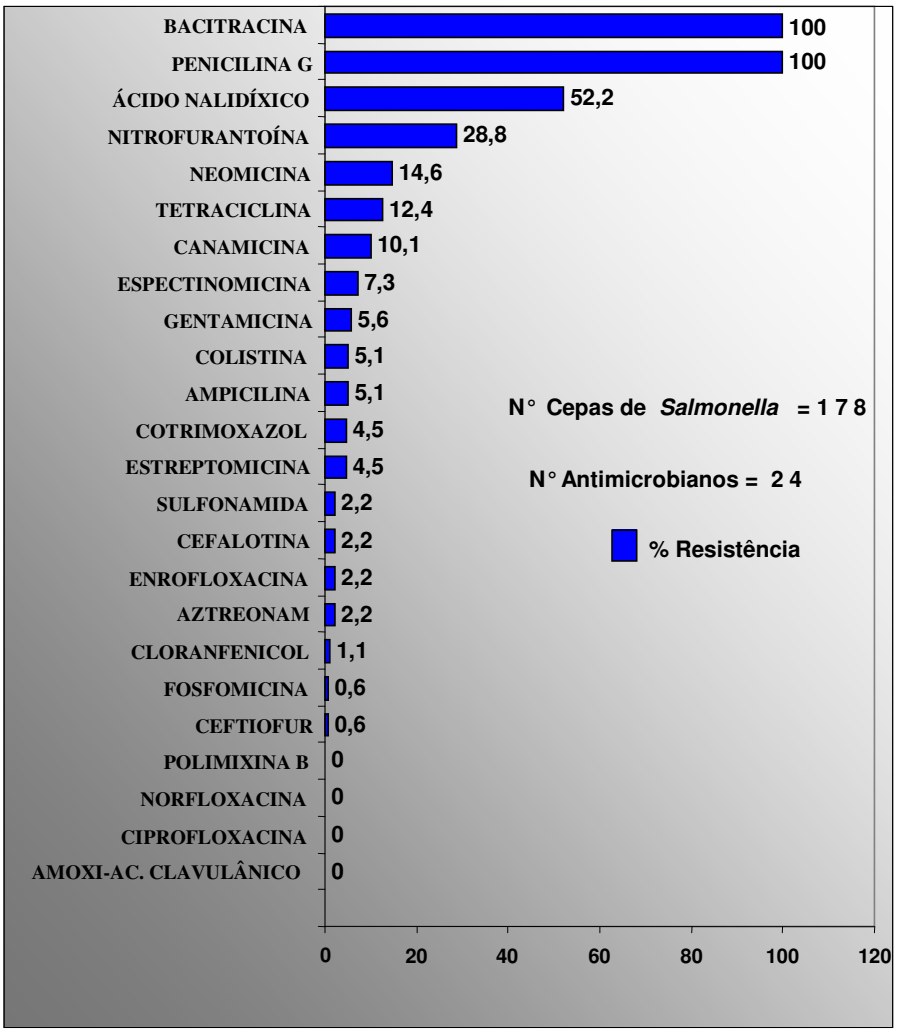

FIGURA 11 – Perfil de resistência das amostras de *Salmonella* do PRP da região Sul do país, frente aos antimicrobianos utilizados nos testes de antibiograma, no período de 2004 a 2006.

4.4.1. Perfil de Resistência dos Sorovares de *Salmonella* Isolados das Carcaças por Espécie de Ave (frango e peru) do PRP

As carcaças de aves apresentaram dois perfis de resistência, sendo 43 cepas de *Salmonella* isoladas das carcaças de peru e 135 cepas de *Salmonella* isoladas das carcaças de frango frente aos 24 antimicrobianos. Observou-se que o ceftiofur e o cloranfenicol foram as drogas de maior ação antibacteriana nos sorovares isolados das carcaças de peru e a enrofloxacina e fosfomicina nas amostras isoladas das carcaças de frango. Embora haja ausência de resistência nas amostras de frango frente a enrofloxacina, notou-se um índice de resistência de 9,3% nas amostras de perus. E todas as amostras foram sensíveis a amoxicilina + ácido clavulânico, ciprofloxacina, norfloxacina e polimixina B, conforme os dados na Figura 12.

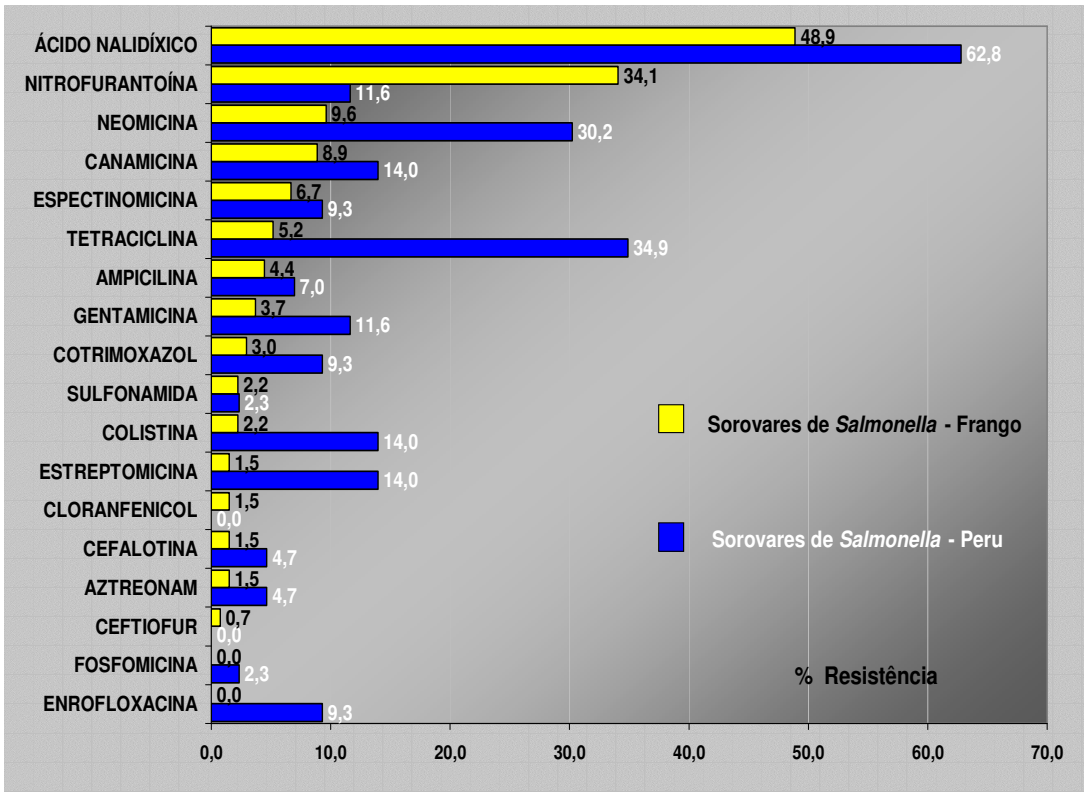

FIGURA 12 – Perfil de resistência dos sorovares de *Salmonella* isolados das carcaças de frango e peru do PRP da região Sul do país, frente aos antimicrobianos no período de 2004 a 2006.

Dentre os sorovares mais prevalentes encontrados neste trabalho, a *Salmonella* Enteritidis foi a que apresentou o maior perfil de resistência (14 antimicrobianos),

porém foi 100% sensível a amoxicilina + ácido clavulânico, ciprofloxacina, norfloxacina, fosfomicina, gentamicina, polimixina B, cotrimoxazol, ceftiofur, cefalotina e cloranfenicol. A multiresistência foi observada na *Salmonella* Enteritidis, pois 80 amostras (92%) foram resistentes a pelo menos dois ou mais antimicrobianos, além da bacitracina e penicilina. E o número máximo de drogas resistentes foram cinco em seis amostras. O perfil de resistência da *Salmonella* Enteritidis está demonstrado na Figura 13.

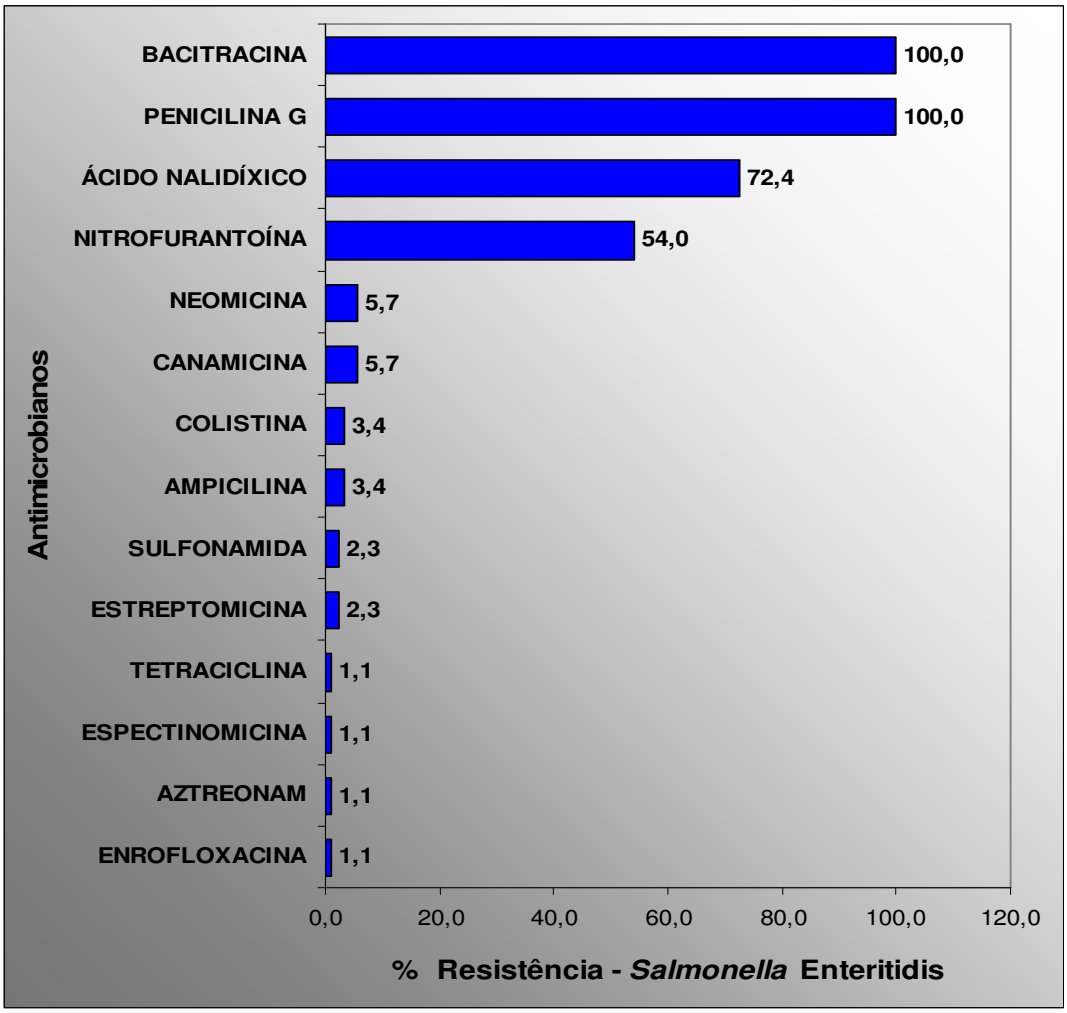

FIGURA 13 – Perfil de resistência das 87 amostras de *Salmonella* Enteritidis isoladas das carcaças de aves no PRP.

No tocante a distribuição da amostras positivas para *Salmonella* Enteritidis por estado, observou-se valores de 64,2% (PR), 70,4% (SC) e 55,1% (RS), os quais não houve diferenças significativas.

4.5. Análise Estatística do Perfil de Resistência dos Sorovares de *Salmonella* sp Isolados das Carcaças de Aves do PRP

Foram realizadas várias análises estatísticas de acordo com os antimicrobianos de maior resistência frente aos sorovares de *Salmonella* sp isolados das carcaças de aves do PRP. Cada antimicrobiano foi confrontado com os sorovares mais prevalentes, com a espécie de ave, com o ano e de acordo com o estado da região Sul que estas amostras eram provenientes.

Nestas primeiras análises, o objetivo do teste, neste caso, era verificar se existia diferenças estatisticamente significante nos percentuais de resistência ou sensibilidade dos principais antimicrobianos (aqueles com maior percentual de resistência) entre os principais sorovares de *Salmonella* sp (as mais prevalentes na amostra estudada). Os sorovares foram comparados dois a dois. Cada um dos principais antimicrobianos foi testado em cada uma destas comparações e estes dados estão demonstrados nas Tabelas 5 a 10.

TABELA 5 – Resultados do teste de Qui-quadrado dos antimicrobianos em relação aos percentuais de resistência dos sorovares *Salmonella* Agona e *Salmonella* Enteritidis isolados das carcaças de aves.

Antimicrobianos	**Sorotipificação**			**Teste Qui-quadrado**	
	Salmonella Agona	**X**	*Salmonella* Enteritidis	Valor p	Resultado
Ácido Nalidíxico	60,0%		72,4%	0,468	Não significativo
Nitrofurantoína	10,0%		54,0%	0,016	Significativo
Neomicina	20,0%		5,7%	0,152	Não significativo
Tetraciclina	10,0%		1,1%	0,197	Não significativo
Canamicina	20,0%		5,7%	0,152	Não significativo

Conclusão do teste Qui-quadrado: No caso da nitrofurantoína há diferença estatisticamente significante entre os percentuais de resistência de *Salmonella* Agona (10,0%) e *Salmonella* Enteritidis (54,0%) (p = 0,016). Considera-se que há diferença estatisticamente significante sempre que o valor p for menor que 0,05. Os demais testes obedecem à mesma interpretação.

TABELA 6 – Resultados do teste de Qui-quadrado dos antimicrobianos em relação aos percentuais de resistência dos sorovares *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Heidelberg isolados das carcaças de aves.

Antimicrobianos	**Sorotipificação**			**Teste Qui-quadrado**	
	Salmonella Enteritidis	**X**	*Salmonella* Heidelberg	Valor p	Resultado
Ácido Nalidíxico	72,4%		10,0%	0,000	Significativo
Nitrofurantoína	54,0%		10,0%	0,016	Significativo
Neomicina	5,7%		0,0%	0,655	Não significativo
Tetraciclina	1,1%		0,0%	1,000	Não significativo
Canamicina	5,7%		20,0%	0,152	Não significativo

TABELA 7 – Resultados do teste de Qui-quadrado dos antimicrobianos em relação aos percentuais de resistência dos sorovares *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Hadar isolados das carcaças de aves.

Antimicrobianos	**Sorotipificação**			**Teste Qui-quadrado**	
	S. Enteritidis	**X**	*S.* Hadar	Valor p	Resultado
Ácido Nalidíxico	72,4%		100,0%	0,106	Não significativo
Nitrofurantoína	54,0%		0,0%	0,003	Significativo
Neomicina	5,7%		22,2%	0,128	Não significativo
Tetraciclina	1,1%		100,0%	0,000	Significativo
Canamicina	5,7%		22,2%	0,128	Não significativo

TABELA 8 – Resultados do teste de Qui-quadrado dos antimicrobianos em relação aos percentuais de resistência dos sorovares *Salmonella* Agona e *Salmonella* Heidelberg isolados das carcaças de aves.

Antimicrobianos	**Sorotipificação**			**Teste Qui-quadrado**	
	S. Agona	**X**	*S.* Heidelberg	Valor p	Resultado
Ácido Nalidíxico	60,0%		10,0%	0,057	Significativo
Nitrofurantoína	10,0%		10,0%	1,000	Não significativo
Neomicina	20,0%		0,0%	0,474	Significativo
Tetraciclina	10,0%		0,0%	1,000	Não significativo
Canamicina	20,0%		20,0%	1,000	Não significativo

TABELA 9 – Resultados do teste de Qui-quadrado dos antimicrobianos em relação aos percentuais de resistência dos sorovares *Salmonella* Agona e *Salmonella* Hadar isolados das carcaças de aves.

Antimicrobianos	**Sorotipificação**			**Teste Qui-quadrado**	
	S. Agona	**X**	*S.* Hadar	Valor p	Resultado
Ácido Nalidíxico	60,0%		100,0%	0,087	Não significativo
Nitrofurantoína	10,0%		0,0%	1,000	Não significativo
Neomicina	20,0%		22,2%	0,474	Não significativo
Tetraciclina	10,0%		100,0%	0,000	Significativo
Canamicina	20,0%		22,2%	1,000	Não significativo

TABELA 10 – Resultados do teste de Qui-quadrado dos antimicrobianos em relação aos percentuais de resistência dos sorovares *Salmonella* Hadar e *Salmonella* Heidelberg isolados das carcaças de aves.

Antimicrobianos	**Sorotipificação**			**Teste Qui-quadrado**	
	S. Hadar	**X**	*S.* Heidelberg	Valor p	Resultado
Ácido Nalidíxico	100,0%		10,0%	0,000	Significativo
Nitrofurantoína	0,0%		10,0%	1,000	Não significativo
Neomicina	22,2%		0,0%	0,211	Não significativo
Tetraciclina	100,0%		0,0%	0,000	Significativo
Canamicina	22,2%		20,0%	1,000	Não significativo

Resultados do teste Qui-quadrado de independência para carcaças de aves. O objetivo do teste, neste caso, é verificar se existiam diferenças estatisticamente significante nos percentuais de resistência ou sensibilidade dos principais antimicrobianos (aqueles com maior percentual de resistência) entre as carcaças de frango e peru. Os sorovares de *Salmonella* sp isolados destas carcaças estão sendo considerados em conjunto, e os dados estão demonstrados na Tabela 11.

TABELA 11 – Resultados do teste de Qui-quadrado dos antimicrobianos em relação aos percentuais de resistência encontrados nos sorovares de *Salmonella* sp das carcaças de frango e peru.

Antimicrobianos	Carcaças de Aves			Teste Qui-quadrado	
	Frango	X	Peru	Valor p	Resultado
Ácido Nalidíxico	48,9%		62,8%	0,112	Não significativo
Nitrofurantoína	34,3%		11,6%	0,004	Significativo
Neomicina	9,6%		30,2%	0,001	Significativo
Tetraciclina	5,2%		34,9%	0,000	Significativo
Canamicina	8,9%		14,0%	0,385	Não significativo

Conclusão do teste Qui-quadrado: No caso do ácido nalidíxico e canamicina não houve diferença estatisticamente significante entre os percentuais de resistência dos sorovares de *Salmonella* das carcaças de frango e peru.

Resultados do teste Qui-quadrado de independência de acordo com o ano dos isolamentos das amostras. O objetivo do teste, neste caso, é verificar se existiam diferenças estatisticamente significante nos percentuais de resistência ou sensibilidade dos principais antimicrobianos (aqueles com maior percentual de resistência) entre os anos de 2004, 2005 e 2006. Os sorovares de *Salmonella* sp isolados das carcaças de aves estão sendo considerados em conjunto, e os dados estão demonstrados na Tabela 12.

TABELA 12 – Resultados do teste de Qui-quadrado dos antimicrobianos em relação aos percentuais de resistência dos sorovares de *Salmonella* sp das carcaças de aves considerando os anos de 2004, 2005 e 2006.

Antimicrobianos	Ano					Teste Qui-quadrado	
	2004	X	2005	X	2006	Valor p	Resultado
Ácido Nalidíxico	63,6%		60,9%		41,3%	0,029	Significativo
Nitrofurantoína	45,5%		21,8%		34,2%	0,097	Não significativo
Neomicina	9,1%		14,9%		15,0%	0,867	Não significativo
Tetraciclina	0,0%		13,8%		12,5%	0,424	Não significativo
Canamicina	0,0%		14,9%		6,3%	0,091	Não significativo

Conclusão do teste Qui-quadrado: No caso do ácido nalidíxico há diferenças estatisticamente significante entre os percentuais de resistência, considerando os anos de 2004, 2005 e 2006 (p = 0,029).

Resultados do Teste Qui-quadrado de independência de acordo com o local (estado) de onde estas amostras foram provenientes. O objetivo do teste, neste caso, é verificar se existiam diferenças estatisticamente significante nos percentuais de resistência ou sensibilidade dos principais antimicrobianos entre os três estados da região Sul. Os sorovares de *Salmonella* sp isolados das carcaças de aves estão sendo considerados em conjunto, e os dados estão demonstrados na Tabela 13.

TABELA 13 – Resultados do teste de Qui-quadrado dos antimicrobianos em relação aos percentuais de resistência dos sorovares de *Salmonella* sp das carcaças de aves considerando os estados da região Sul do país.

Antimicrobianos	**Estado**					**Teste Qui-quadrado**	
	PR	**X**	RS	**X**	SC	Valor p	Resultado
Ácido Nalidíxico	58,1%		43,6%		59,6%	0,123	Não significativo
Nitrofurantoína	32,6%		41,0%		8,9%	0,000	Significativo
Neomicina	9,3%		15,4%		17,5%	0,496	Não significativo
Tetraciclina	11,6%		9,0%		17,5%	0,323	Não significativo
Canamicina	4,7%		12,8%		10,5%	0,359	Não significativo

Conclusão do teste Qui-quadrado: No caso da nitrofurantoína há diferenças estatisticamente significante entre os percentuais de resistência das cepas de *Salmonella* sp isoladas das caraças de aves, considerando os estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná (p = 0,000).

5. DISCUSSÃO

O presente estudo demonstrou a prevalência da *Salmonella* Enteritidis nos isolados das carcaças de aves (frangos e perus) do PRP na região Sul do país, nas quais 156 amostras foram positivas (55,7%) do total de 280 (Figura 9). Este percentual elevado também foi descrito por Nascimento *et al*. (1997), ao trabalharem com carcaças e partes de frango, isolaram 51,0% do sorovar *Salmonella* Enteritidis, 26,0% *Salmonella* Hadar e 11,0% *Salmonella* Heidelberg. Estes mesmos dados corroboram os achados de Santos *et al*. (2000), onde 60,4% dos isolamentos de *Salmonella* das carcaças de frango congeladas eram *Salmonella* Enteritidis e confirmam que este índice elevado na região Sul é devido à disseminação deste sorovar no Brasil a partir da década de 90, conforme relatam Tavechio *et al*. (1996), pois antes eram raros os isolamentos deste sorovar em produtos de origem não humanas.

Se comparados os resultados dos isolados de *Salmonella* Enteritidis entre as duas espécies de aves, frango e peru, o percentual de isolamento nas carcaças de frango foi 77,8% maior que nos perus, sendo naquelas a prevalência de 63,3% do total das amostras isoladas. Mesmo assim, estes dados foram menores que os descritos por Lírio *et al.* (1998), analisando carcaças de frango adquiridas para merenda escolar na cidade de São Paulo, entre 1992 e 1996, em que a presença de *Salmonella* Enteritidis foi 70,6% e um ano depois, em 1997, este índice subiu para 81,4%.

Comparando os índices de *Salmonella* Enteritidis por estado da região Sul, não houve diferença significativa entre cada um dos estados, PR (64,2%), SC (70,4%) e RS (55,1%), nas 150 amostras isoladas das carcaças de frangos, sendo semelhantes aos achados que outros autores também relataram em seus estados (BORSOI, 2005; MATHEUS, *et al.,* 2003; NASCIMENTO *et al.,* 1997; SANTOS *et. al.,* 2000). É importante salientar que a distribuição da amostragem não permite maiores extrapolações em relação a estes resultados.

Mesmo depois de quase três décadas do início dos surtos causados por este sorovar em humanos, é surpreendente que a *Salmonella* Enteritidis apresente índices tão elevados como os encontrados neste trabalho, mesmo diante das constantes mudanças técnicas e sanitárias que vem sofrendo a avicultura no Brasil. Uma delas é o uso das vacinas inativadas oleosas (bacterinas) nos plantéis de matrizes de corte, que previnem à transmissão transovariana, a contaminação da casca dos ovos e reduzem o índice de isolamento nas amostras fecais (SILVA; DUARTE, 2002). Além do que, existe no

Brasil um programa sanitário que controla as granjas de avós e matrizes de corte, denominado de PNSA (Programa Nacional de Sanidade Avícola), que atua na vigilância ativa dos lotes (BRASIL, 1995) e cujas notificações de lotes positivos para *Salmonella* Enteritidis são pouco freqüentes.

Assim sendo, se as matrizes estão sendo monitoradas, é possível que estejam ocorrendo falhas de biosseguridade nas granjas de frango de corte ou as próprias matrizes sejam portadoras assintomáticas de sorovares de *Salmonella* Enteritidis e não são detectáveis nos exames de rotina enviados aos laboratórios (materiais para análises de rotina: suabes de arrasto de cama de aviário, suabes de cloaca, ovos incubáveis ou bicados e pintos refugos). Um trabalho realizado por Rocha *et al.* em 2003, no estado de Goiás, avaliou pintos de corte com um dia de idade, pertencentes a três empresas integradoras de frangos, os quais demonstraram a presença de *Salmonella* sp em 11,1% dos forros das caixas transportadoras e 3% nos pintainhos de um dia na chegada ao aviário. Foram isolados dois sorovares: *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Heidelberg, sendo o primeiro o mais freqüente (92,3%). Estes achados reforçam que a *Salmonella* Enteritidis merece atenção por parte das autoridades que controlam os plantéis avícolas no país para que estes índices possam ser diminuídos, principalmente nas carcaças de frango como ficou demonstrado neste trabalho.

Nas carcaças de perus o índice de *Salmonella* Enteritidis foi menor que nas carcaças de frangos, isolaram-se seis amostras das 43 sorotipificadas e nenhuma foi isolada no estado de Santa Catarina. A *Salmonella* Hadar obteve o maior percentual dos isolamentos (18,6%), mesmo assim a *Salmonella* Enteritidis foi o segundo sorovar mais isolado nas carcaças de perus (14%). Estes resultados diferem do trabalho realizado por Antunes *et al.* (2003) que não detectou a presença de *Salmonella* Enteritidis nas carcaças de perus, mas isolou *Salmonella* Hadar, *Salmonella* Saintpaul, *Salmonella* Indiana e *Salmonella* Blockley, em Portugal.

No Brasil, os relatos de isolamento de *Salmonella* em carcaças de perus são pouco conhecidos ou quase inexistentes, pois a produção de perus esteve por vários anos ligados a uma única empresa do setor avícola. Um estudo brasileiro realizado por Hofer *et al.* (1997), confirmaram a presença de *Salmonella* Chester em perus, a qual não foi isolada neste experimento, provenientes do estado de Santa Catarina, porém a partir de um caso clínico na região. Atualmente com mais de uma empresa produtora de perus, a própria legislação (PRP), foi editada para estas espécies de aves que antes eram de pouca expressão e de baixo consumo, estão sendo alvo de programas de controle

sanitários e de segurança alimentar. Corrobora com o empenho em conhecer e controlar salmonelas em aves, o fato de o Brasil ser o maior exportador de carnes de frango e ser o país que mais tem crescido em exportações de carne de peru "*in natura*" e industrializada nos últimos cinco anos (AVISITE, 2006).

Os resultados apresentados na Tabela 3 demonstram que somente dois sorovares não estavam presentes nas carcaças de frango, são eles: *Salmonella enterica* subespecie *enterica* (O: 4,5) e *Salmonella* Tennessee, os quais foram, no entanto isolados das carcaças de peru. Observou-se que o sorovar mais prevalente nas carcaças de peru, a *Salmonella* Hadar (18,6%), foi o menor em percentual dos isolados nas carcaças de frango (0,4%) e em ambos os casos pertencentes à mesma empresa. Isto só foi possível por que este estabelecimento teve as suas amostras identificadas pelo número do SIF, ao contrário da maioria cujas amostras estavam codificadas por estado para manter o sigilo das informações. A presença deste sorovar nos dois tipos de carcaças pode ser um indicativo de que houve contaminação cruzada dentro do frigorífico, devido ao fato de ambas as espécies de aves serem abatidas no mesmo estabelecimento (com linhas de abates distintos). Por outro lado, estas aves podem ter sido contaminadas através da ingestão de rações fabricadas com a mesma matéria-prima de origem vegetal, porém contaminada por *Salmonella* sp, pois de acordo com Palmeira (2003) a presença de *Salmonella* em produtos de origem vegetal, tais como, farelo de soja, utilizado para alimentação animal é uma das principais fontes de contaminação dos plantéis avícolas brasileiros, pois este trabalhando com farelo de soja para fabricação de rações de aves obteve durante os anos de 1999 a 2001 uma taxa de isolamento de 5,45% *Salmonella* sp das 2164 amostras analisadas.

Os achados de Cortez *et al.* (2006) demonstraram que a *Salmonella* na sua maior parte entra nos abatedouros através de frangos contaminados e que esta pode ser disseminada rapidamente dentro dos frigoríficos como foi comprovado no estudo que realizaram coletando amostras de fezes, água de escaldagem, água de evisceração, água de resfriamento (chillers), carcaças não evisceradas, carcaças evisceradas e carcaças resfriadas. Em todas estas amostras foi isolado o mesmo sorovar, a *Salmonella* Kentucky, ao menos em um dos frigoríficos estudados.

Dos 25 sorovares sorotipificados, apenas 14 foram isolados nas carcaças de perus, esta diferença entre os sorovares das aves, também foi descrita em relatório emitido pela UE (União Européia) que aponta a *Salmonella* Enteritidis como uma das mais prevalentes (11,0%) em produtos cárneos de frango, perdendo a posição do

primeiro lugar, em alguns dos estados membros, para a *Salmonella* Java e *Salmonella* Typhi, ambas com 20% dos isolamentos. E nos produtos cárneos de perus, a prevalência ocorreu com o sorovar, *Salmonella* Typhimurium, pois a maioria dos países membros é monitorada pelo sistema de vigilância europeu (EFSA, 2004). Estes dados emitidos pelo relatório da UE, contrastam com os achados nas carcaças de perus na região Sul do país, pois a *Salmonella* Hadar foi a mais prevalente.

O Canadá tem expressiva participação no mercado mundial de carnes de perus, 70% da sua produção anual são exportadas e o país ocupa o 4° lugar na lista dos exportadores mundiais. Poppe e colaboradores em 1995, relataram à prevalência de *Salmonella* nos plantéis de perus de cortes e verificaram que das 2690 amostras isoladas, 14,09% eram *Salmonella* Anatum, 12,97% *Salmonella* Hadar, 12,68% *Salmonella* Agona, 10,82% *Salmonella* Heidelberg, 9,22% *Salmonella* Saintpaul. Foram 52 tipos diferentes de sorovares de *Salmonella* sp. Se compararmos o número de sorovares entre os isolados no Canadá (52) e os que foram encontrados no presente estudo (14), quatro sorovares não foram relatados naquele país, a *Salmonella enterica* subespecie *enterica* (O: 4,5), *Salmonella* Panama, *Salmonella* Rissen e a *Salmonella* Enteritidis, esta última tem sido raro os isolamentos em perus no Canadá.

Também contrastam com os resultados aqui encontrados, os achados de Trampel *et al*. (2000), que analisaram dois abatedouros sob inspeção federal nos Estados Unidos, e isolaram 21,2 % e 0,4% de *Salmonella* sp das carcaças de perus respectivamente. Destas amostras isoladas, obtiveram 11 sorovares, sendo os principais a *Salmonella* Sandiego (60%), *Salmonella* Ohio (10%), *Salmonella* Montevideo (6,7%) e *Salmonella* Indiana (5%) e nenhum sorovar de *Salmonella* Enteritidis nem *Salmonella* Hadar.

Foi realizado um outro estudo na região meio-oeste dos EUA, em dois abatedouros de perus, e o número de cepas de *Salmonella* sp foram semelhantes aos registrados neste trabalho (Tabela 3), em que os autores encontraram 15 diferentes sorovares de *Salmonella* em carcaças de perus, porém não relataram a prevalência entre os sorovares, citando apenas que a *Salmonella* Senftenberg foi a mais comum, juntamente com a *Salmonella* Hadar, *Salmonella* Agona e *Salmonella* Heidelberg (LOGUE *et al.,* 2003).

Na determinação do perfil de resistência, entre os 24 antimicrobianos testados frente aos 25 sorovares isolados de carcaças de aves do PRP na região sul do país, os dados mostram que 100% das amostras de *Salmonella* sp foram resistentes a bacitracina e penicilina (Figura 11). A bacitracina por ser um antibiótico classificado como

polipeptídico, seu mecanismo de ação consiste na interferência da biossíntese da parede celular bacteriana e atua inibindo a formação de peptidoglicanas. A membrana externa pode servir de barreira à bacitracina. Por isso, as bactérias gram-positivas são mais susceptíveis aos seus efeitos, que se assemelham aos ionóforos e assim explique porque as gram-negativas são mais resistentes a sua ação. Concordam com estes resultados o trabalho realizado por Radu *et al.* (2001) que também obteve 100% de resistência a bacitracina nas amostras de *Salmonella* Weltevreden isoladas de aves. E os achados de Shaheen *et al.* (2004), que obtiveram 100% de resistência nas amostras de *Salmonella* Enteritidis frente a bacitracina. Em muitos países, principalmente da UE, este tipo de droga, considerada como promotor de crescimento, e usada durante décadas nas rações fornecidas para os animais foram banidas e atualmente servem como barreiras não tarifárias para países exportadores como o Brasil (NETO, 2006).

Todas as amostras de *Salmonella* sp foram resistentes à penicilina, corrobora com estes dados, os resultados obtidos por Baú *et al.* (2001), que encontraram 100% de resistência ao mesmo antimicrobiano, nas amostras isoladas de frangos e ovos na região de Pelotas (RS) e também os achados de Radu *et al.* (2002) em todas as amostras de *Salmonella* Weltevreden. Até em amostras de *Salmonella* isoladas de rações a penicilina foi 100% resistente (BERCHIERE JUNIOR *et al,.* 1993). Contudo, existem relatos de cepas de *Salmonella* apresentarem moderada sensibilidade à penicilina G, como foi demonstrado em uma única amostra de *Salmonella* Berta, isolada de produtos avícolas nos EUA (ROY *et al.*, 2002).

A segunda maior resistência foi encontrada frente ao ácido nalidíxico (52,2%), que está de acordo com os achados de Breuil *et al.* (2000), os quais encontraram 72% dos isolados de *Salmonella* Hadar resistentes, estudando amostras de origem animal, durante o ano de 1997, na França. Concordaram também com estes dados, os relatos descritos por Antunes *et al.* (2003), em que 50% das amostras de *Salmonella* analisadas foram resistentes ao ácido nalidíxico. As quinolonas estão entre as drogas de eleição nos tratamentos das afecções entéricas em humanos, portanto o seu uso na indústria avícola tem se mostrado indevido, pela possibilidade de haver resistência cruzada entre os sorovares de *Salmonella*, isolados em surtos concernentes à saúde pública. Isto ficou demonstrado pelo aumento da resistência as quinolonas em aves, logo após a liberação do seu uso para fins terapêutico em medicina veterinária na Alemanha. A primeira droga a sentir o impacto desta resistência foi o ácido nalidíxico, que teve um aumento

significativo do ano de 1984 (<0,5%) para 1996 (14,4%) somente nas *Salmonella* de origem aviária (MALORNY *et al.,* 1999).

Como o ácido nalidíxico tem sido pouco usado na terapêutica dos plantéis avícolas brasileiros e sabe-se que seu mecanismo de ação atua sobre a fita de DNA das bactérias, os achados do presente trabalho, sugere que de alguma forma os operons da fita de DNA possam ser estimulados pelo uso de outra droga de similar estrutura química e de mesma ação, como as fluorquinolonas, bloqueando a ação bactericida desta droga, por indução indireta nesta local.

Comparando os dados de resistência entre os sorovares de maior prevalência isolados neste trabalho, frente ao ácido nalidíxico, observou-se que houve diferença significativa entre os sorovares *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Agona e *Salmonella* Hadar para a *Salmonella* Heidelberg nas amostras isoladas das carcaças de aves, expressos nas Tabelas 6, 8 e 10 respectivamente. Todas as amostras apresentaram 100% de sensibilidade às fluorquinolonas: ciprofloxacina, norfloxacina e enrofloxacina, exceto quatro cepas isoladas das carcaças de peru que foram resistentes a enrofloxacina. Estes achados também foram encontrados por Borsoi (2005) examinando carcaças de frangos, onde 100% das cepas de *Salmonella* foram sensíveis a ciprofloxacina e norfloxacina, porém obteve 69,2% de resistência a enrofloxacina. Outros autores, também descreveram que as amostras de *Salmonella* isoladas de produtos avícolas foram na sua totalidade 100% sensíveis a ciprofloxacina e/ou norfloxacina, em conformidade com os resultados acima citados (CARDOSO *et al.*, 2006; CARRAMIÑANA *et al.,* 2004; GUERRA *et al.,* 2000; OLIVEIRA *et al.,* 2005).

No Sul do país, a fluorquinolona de maior uso na indústria avícola é a enrofloxacina, devido ao seu baixo custo e eficiência nos tratamentos das doenças entéricas. Por ser comumente usada pelos veterinários a campo, isto pode explicar o aumento da resistência da *Salmonella* ao ácido nalidíxico (OLIVEIRA *et al.,* 2005) e a presença de resistência a enrofloxacina especialmente nas amostras provenientes dos perus (9,3%).

Nos isolados de *Salmonella* sp das carcaças de aves, a terceira droga que apresentou maior resistência foi a nitrofurantoína, 28,8% (Figura 11). Existe uma similaridade com os resultados obtidos por Oliveira *et al.* (2005), quando se observa a região onde foi realizado o estudo, pois estes trabalhando com carcaças de frango provenientes do sul do país (RS) encontraram 86,4% de amostras de *Salmonella*

Enteritidis resistentes a nitrofurantoína. Comparando a mesma região com os resultados obtidos neste estudo, o estado do Rio Grande do Sul foi o que maior percentual de resistência apresentou nas amostras de *Salmonella* sp isoladas das carcaças de frango (41,0%), que foi significativamente diferente do estado de Santa Catarina (8,0%), para este antimicrobiano. Esta correlação aumenta quando considerado apenas o sorovar *Salmonella* Enteritidis que foi 54,0% resistente a nitrofurantoína, demonstrando que este tipo de droga possivelmente continue sendo utilizada nos frangos. Corroboram com estes dados, os recentes achados de Cardoso *et al.* (2006), que trabalhando com o mesmo sorovar, a *Salmonella* Enteritidis, e na mesma região (RS), obtiveram 95% de resistência a nitrofurantoína. Outros autores também observaram índices menores, porém semelhantes de resistência a nitrofurantoína (29,0%) aos obtidos neste trabalho, quando estudaram amostras de *Salmonella* sp de carcaças de frango na Grécia (ARVANITIDOU *et al.,* 1998).

Mesmo após a proibição pelo Ministério da Agricultura, do uso de nitrofuranos na produção animal, incluso está à avicultura, continuam aparecendo cepas de microrganismos resistentes a nitrofurantoína. Permanece em questão, se esta droga está sendo utilizada de maneira indevida ou encoberta por pessoas sem o conhecimento de causa, ou existe a possibilidade de que o gene de resistência esteja incorporado ao DNA das bactérias, introduzida de forma natural ou adquirida, mediante o percentual elevado de amostras de *Salmonella* sp resistentes e descritas nos trabalhos citados anteriormente. De qualquer modo, esta questão necessita um estudo mais aprofundado, pois à medida que os países importadores estão criando barreiras não tarifárias para os produtos avícolas, é importante conhecer a razão de tantos sorovares *Salmonella* resistentes a esta droga proibida no fim da década de 90 (NETO, 2006; BRASIL, 2003a).

Os antimicrobianos utilizados frente aos isolados de *Salmonella* sp de carcaças de aves que apresentaram percentuais semelhantes de resistência, são a neomicina (14,6%) e tetraciclina (12,4%). Resultados similares foram encontrados por Carramiñana *et al*. (2004), utilizando a tetraciclina (21,8%) e discordantes para a neomicina (53,4%) nas amostras de *Salmonella* sp dos abatedouros de frangos na Espanha. Contrastam aos estudos acima citados os achados de Duffy *et al*. (1999) onde registraram 93% das amostras resistentes à tetraciclina e 100% sensíveis a neomicina, nos isolados de *Salmonella* sp dos produtos avícolas.

Nos estudos de Cardoso *et al.* (2006), a tetraciclina foi 100% resistente para a *Salmonella* Enteritidis isolada de carcaças de frango no RS. Embora nos comentários de

Oliveira *et al*. (2006), que trabalharam com amostras de *Salmonella* Enteritidis, isoladas de surtos em humanos, citam que foi inesperado o percentual de resistência de 2,5% à tetraciclina, por ser esta uma droga das mais usadas na terapêutica para produção de animais. Contudo, no presente trabalho, também foi observado índices de resistência muito baixos para a tetraciclina (1,1%), frente ao sorovar *Salmonella* Enteritidis. É possível que o uso de novas drogas na medicina veterinária, exerça uma pressão de seleção e o aparecimento de novas cepas menos resistentes às drogas mais antigas, e ocorra a perda deste fragmento de DNA, pela deleção do conteúdo genético, nas próximas gerações de microrganismos, tornando-as mais sensíveis às moléculas mais tradicionais, quando por elas desafiadas. Ou talvez os genes de resistência permaneçam inibidos por algum tipo de mecanismo que os façam expressar mediante presença de alguma substância ou outra droga antimicrobiana. De qualquer modo, estas diferenças de resistência as tetraciclinas, já citadas anteriormente, servem de alerta e poderiam ser mais bem explicadas através de um estudo genético.

Alguns anos atrás, no final da década de 60, as tetraciclinas já apresentavam índices de resistência em torno de 67 a 86% nas amostras pertencentes aos casos clínicos em perus e frangos (GREENFIELD; BANKIER, 1969), então com o passar dos anos com o uso contínuo da tetraciclina para fins terapêuticos, deveria haver uma altíssima resistência nas amostras de *Salmonella* isoladas de produtos avícolas, porém neste estudo não ficou evidenciado a presença de sorovares resistentes como seria o esperado.

Observando o perfil de resistência dos isolados de *Salmonella* das carcaças em relação às espécies de aves, verificou-se que há diferenças significativas para três antimicrobianos; nitrofurantoína, neomicina, e tetraciclina (Tabela 10), demonstrando que as amostras oriundas das carcaças de peru foram mais resistentes que as isoladas das carcaças de frango, onde esta última apresentou maior resistência apenas à nitrofurantoína. Para as drogas ceftiofur e cloranfenicol não foram encontradas cepas de *Salmonella* sp resistentes em perus, porém estas desenvolveram resistência para as drogas fosfomicina e enrofloxacina, que por sua vez não foram observadas nas amostras de *Salmonella* sp das carcaças de frango.

Alguns autores também trabalharam com amostras de *Salmonella* de ambas as espécies de aves, e os resultados contrastam em relação a uma droga analisada, a enrofloxacina, por ser mais resistente nas cepas isoladas de carcaças de frango, cujo valor foi de 50% (ANTUNES *et al.*, 2003).

Outro estudo conduzido por Greenfield; Bankier (1969), comparando as espécies de aves, foi realizado no Canadá, na década de 60, e demonstrou que as amostras de *Salmonella* sp não apresentaram diferenças significativas para as drogas neomicina, nitrofurantoína, cloranfenicol e tetraciclina, possuindo as três primeiras sensibilidades acima de 92%. Apenas o perfil para o cloranfenicol foi compatível com os achados neste trabalho.

Nos isolados das carcaças de perus apresentados neste estudo, às drogas mais resistentes foram: ácido nalidíxico (62,8%), tetraclicina (34,9%) e neomicina (30,2%). E todas as cepas foram sensíveis a amoxicilina + ácido clavulânico, ceftiofur, ciprofloxacina, cloranfenicol, norfloxacina, e polimixina B. Concordam com achados de sensibilidade para a ciprofloxacina e polimixina B o estudo conduzido por Poppe *et al.* (1995), em 2690 cepas de *Salmonella* sp isoladas de perus no Canadá, como também a resistência à tetraciclina (38,1%). Mas discordam quanto a maior resistência, os quais relataram ser para a droga espectinomicina (97,6%), onde no presente estudo foi observado 9,3%. Eles também descrevem a sensibilidade a amicacina, que não foi utilizada neste trabalho e suprimiram o ácido nalidíxico.

Em dois abatedouros de perus nos EUA, a resistência bacteriana as drogas foi observada, sendo a mais alta para a sulfametoxazol (70%) e tetraciclina (65%), contrapõem-se a estes resultados os dados obtidos neste estudo em que o ácido nalidíxico foi o que maior resistência conferiu frente às amostras analisadas (62,8%) e um baixo nível de resistência ao cotrimazol (9,3%). Embora as drogas amoxicilina + ácido clavulânico, ceftiofur, cloranfenicol e ciprofloxacina, sejam igualmente sensíveis para todas as amostras de *Salmonella* sp isoladas em uma das plantas de abate (LOGUE *et al,* 2003).

Foi demonstrado no presente estudo que as amostras de *Salmonella* das carcaças de aves, quando suprimidas a bacitracina e a penicilina (100% resistência), o percentual de amostras resistentes a pelo menos um antimicrobiano foi 78,2% e a multiresistência (dois ou mais) de 46,1%. Estes resultados foram menores que os encontrados por Carramiñana *et al.* (2004), que obteve 65,4% de multiresistência em amostras oriundas dos abatedouros de aves na Espanha. Outros autores também descreveram a presença de multiresistência em sorovares de *Salmonella* Enteritidis isolados de carcaças de frango, com taxas de 51,6% (OLIVEIRA *et al.*, 2005). As quais foram similares aos dados apresentados neste trabalho (46,1%) e (45,7%) para os isolados de *Salmonella* Enteritidis. De igual modo, 88,8% das amostras foram resistentes a pelo menos um

antimicrobiano, equivalendo assim aos resultados de Oliveira *et al.* em 2005, que encontraram 90,1%.

A *Salmonella* Hadar apresentou a maior taxa de multiresistência entre todos os sorovares, foram 100% das amostras resistentes no mínimo a quatro ou mais drogas, e no máximo oito. Estes resultados foram mais altos que os 42% encontrados por Martel *et al.* (2000), para as amostras de *Salmonella* Hadar isoladas em produtos avícolas e do meio ambiente. No entanto os mesmos autores obtiveram 96,7% das amostras resistentes a pelo menos um antimicrobiano.

A maior multiresistência encontrada foi na amostra de *Salmonella* Saintpaul isolada de carcaças de peru, frente a 11 antimicrobianos. Para este mesmo sorovar, Wilson (2004), obteve resistência acima de quatro antimicrobianos, em produtos avícolas importados do Brasil e Tailândia.

Em Portugal, a *Salmonella* Saintpaul isolada de produtos cárneos de peru, apresentaram multiresistência a cinco drogas (estreptomicina, tetraciclina, ácido nalidíxico, cloranfenicol e sulfametoxazol + trimetoprim), diferindo do presente estudo em que não foi encontrada nenhuma amostra entre os três sorovares isolados de *Salmonella* Saintpaul multiresistentes ao cloranfenicol e estreptomicina e que segundo os mesmos autores entre as espécies animais, as aves tem sido os maiores reservatórios de sorovares de *Salmonella* multiresistentes (ANTUNES *et al.*, 2003).

Observando o grau de resistência aos betalactâmicos, foi detectado que apenas uma amostra se apresentou resistente a ampicilina, cefalotina, ceftiofur e ao aztreonam (monobactâmico - freqüententemente usado como um dos antibióticos de eleição neste tipo de triagem para detectar presença de ESBLs (BLEAs)). Esta amostra encontrada foi a *Salmonella* Typhimurium isolada de frangos abatidos no RS. Como são raros os casos ESBLs associados ao gênero *Salmonella*, alguns pesquisadores tem procurado associar estas cepas de *Salmonella* sp isoladas dos produtos de origem animal com a possível produção de ESBLs e os casos de surtos em humanos, principalmente quando envolve crianças, que possuem um sistema imunológico em formação (WEILL *et al.,* 2004). Analisando os vários trabalhos com *Salmonella* sp de origem animal, poucos tem se detido a esta questão que parece de grande relevância por ser concernente a saúde pública. Como a *Salmonella* Typhimurium, isolada neste estudo, foi resistente há alguns dos betalactâmicos e um deles que é usado no teste de triagem, isto significa que ela pode ser produtora de ESBLs faltando apenas completar o teste de triagem e depois executar o teste confirmatório. Segue como sugestão que se observem nos novos

trabalhos as cepas que são multiresistentes aos betalactâmicos para proceder com os testes de triagem e confirmatórios

Dentre os antimicrobianos que não são freqüentes o uso na terapêutica avícola, o aztreonam foi o que apresentou um índice de resistência relativamente baixo, de 2,2% para as amostras de *Salmonella* isoladas das carcaças de aves. Estes dados foram semelhantes aos achados de Santos *et al.* (2000), trabalhando com carcaças congeladas de frango, que obtiveram 2,1% de resistência para a mesma droga. Contrastam de forma preocupante os relatos de Cortez *et al.* (2006), que encontraram 86,2% de amostras resistentes ao aztreonam nos sorovares de *Salmonella* isolados de dirversos pontos do processo de abate de frangos, inclusive das carcaças, uma taxa tão elevada para um antibiótico que não existe relatos até o presente momento do seu uso na avicultura moderna.

Os resultados deste trabalho permitem concluir da importância dos programas de controle governamentais implantados com intuito de reduzir a presença de patógenos nos produtos de origem animal, atendendo assim, inclusive as legislações internacionais. As análises dos dados e a possibilidade de testagem das amostras isoladas no Programa de Redução de Patógenos do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, permitiu-se chegar aos dados essenciais no tocante a presença de *Salmonella* sp nas carcaças de frango e peru na região Sul do país.

A realização dos antibiogramas apontou resultados que merecem a atenção das autoridades e do setor avícola, buscando cada vez mais o controle na racionalização do uso destes fármacos na produção animal. .

6. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

1. O sorovar mais prevalente foi a *Salmonella* Enteritidis isolado das carcaças de frango de corte, com a taxa de isolamento de 63,3%. Esta taxa sugere a necessidade de um maior controle dos plantéis avícolas, a reavaliação da biosseguridade das granjas e aviários, como também um melhor acompanhamento das práticas de vacinações e da resposta imune destas aves.

2. O total de sorovares de *Salmonella* sp isolados das carcaças de frango e peru foram 25, onde 23 em frangos e 14 nos perus. Como este estudo possivelmente seja um dos primeiros relatos da prevalência dos sorovares de *Salmonella* em carcaças de perus no Brasil, a tendência é que o número de sorovares possa aumentar à medida que mais amostras sejam isoladas e sorotipificadas. Também poder-se-ia supor que estes sorovares possam proceder de mais de uma fonte de contaminação.

3. A *Salmonella* Hadar (18,6%) e *Salmonella* Enteritidis (14,0%) foram as mais prevalentes nas carcaças de perus. Por serem ambas também isoladas em surtos humanos, a inclusão da *Salmonella* Hadar e outros sorovares no PNSA auxiliariam desde o campo no controle mais efetivo da salmonelose humana.

4. O sorovar *S.* Hadar foi isolado de ambas as espécies de aves, com origem no mesmo SIF. Há forte evidência de que esta contaminação se originou dentro da mesma planta de abate, ou que os ingredientes da ração fornecida para as aves estariam contaminados com o mesmo sorovar.

5. O perfil de resistência das cepas de salmonelas isoladas das carcaças de aves da região sul do país a pelo menos antimicrobiano foi considerado relativamente elevado (78,2%), o que reforça a importância de o governo federal monitorar estes tipos de drogas antimicrobianas através da criação de um Programa Nacional de Monitoramento da Resistência Bacteriana aos Antimicrobianos.

6. As cepas de *Salmonella* sp apresentaram multiresistência moderada (46,1%), possivelmente já por efeito da diminuição do número de drogas utilizadas nos tratamentos terapêuticos e nas rações animais, ocorrida após a proibição do uso de vários antimicrobianos na medicina veterinária implementado progressivamente pelo MAPA a partir de 1998.

7. As fluorquinolonas foram consideradas efetivas para uso na terapêutica da produção avícola na região sul do país, pelo alto grau de sensibilidade das amostras analisadas, apresentando restrições concernentes à saúde pública.

8. A moderada resistência encontrada nas amostras de *Salmonella* para o ácido nalidíxico (52,2%), pode ser indicativo que esta droga possa estar sendo influenciada pelo uso de outras quinolonas de última geração (fluorquinolonas), pelo fato de não ser mais comum o seu uso nos tratamentos das enterites aviárias.

9. Os dados apresentados neste estudo traduzem a importância de programas de controles microbiológicos como o PRP, para avaliar a real situação que representa a *Salmonella* na indústria avícola.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AARESTRUP, F.M. Association Between the Consuption of Antimicrobial Agents in Animal Husbandry and the Occurrence of Resistant Bacteria Among Animals. **International Journal Antimicrobial Agents**, v.12, p.279-285, 1999.

ANTUNES, P.; RÉU, C.; SOUZA, J.C.; PEIXE, L.; PESTANA, N. Incidence of *Salmonella* from poultry products and their susceptibility antimicrobial agents. **International Journal Food Microbiology**, v.82, p.97-1003, 2003.

ARVANITIDOU, M.; TSAKRIS, A.; SOFIANOU, D.; KATSOUYANNOPOULOS, V. Antimicrobial resistance and R-factor transfer of *Salmonellae* isolated from chicken carcasses in Greek hospitals **International Journal Food Microbiology**, v.40, p.197-201, 1998.

AVISITE. Brasil mantém-se como o maior exportador mundial de frango. Disponível em:<http://www.avisite.com.br/noticias/maisnotss.asp?codnoticia=7448&codCategoria=3&Mes=0&Ano=2006> acesso dia 29 jan.2007.

BAU, A. C.; CARVALHAL, J. B.; ALEIXO, J. A. G. Prevalence of salmonella in chicken products and hen's eggs from Pelotas, RS, Brazil. **Ciências Rurais.** mar./apr. 2001, v.31, nº2, p.303-307.

BARROW, P.A. Salmonella – Present, Past and Future. **Avian Pathology**, v.22: p.651-669. 1993

BAUER, A.W. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal Clinical Microbiology.** 40: 2413-5, 1966.

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

BERCHIERI JÚNIOR, A.; MACARI, M**. Doenças das Aves**.1°ed.CAMPINAS FACTA- 2000 - Campinas , SP. V.1, 800p.

BORSOI, A. **Ocorrência, contagem, e Resistência Antimicrobiana de *Salmonella* isoladas de Carcaças de Frangos Resfriadas e Pesquisa de *Salmonella* em Galpões de Frangos de Corte.** 2005. 78 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias): Faculdade de Veterinária – PPGCV – UFRGS. Porto Alegre, 2005.

BRASIL, 1995. PROMRANA NACIONAL DE SANIDADE AVÍCOLA. Portaria nº8 de 23 de janeiro de 1995. Ministério da Agricultra, Pecuária e Abastecimento - MAPA / Secretária de Defesa Agropecuária. **Diário Oficial da União**, 1995.

BRASIL, 2003a. MINISTÉRIO DA AGRICULTRA E DO ABASTECIMENTO - MAPA / SECRETÁRIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA. .Proibe a fabricação e manipulação ou fracionamento, a comercialização, a importação e uso dos principios

ativos cloranfenicol e nitrofuranos e os produtos que contenham estes princípios no uso veterinário e susceptíveis de emprego na alimentação de todos os animais e insetos. **Diário Oficial da União**. Brasília, Instrução Normativa nº9, de 27 de junho de 2003. [p. -] Seção 1.

BRASIL, 2003b. MINISTÉRIO DA AGRICULTRA E DO ABASTECIMENTO - MAPA / SECRETÁRIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA. Programa de Redução de Patógenos Monitoramento Microbiológico e Controle de Salmonella sp em Carcaças de Frangos e Perus. **Diário Oficial da União**. Brasília, Instrução Normativa nº 70, de 06 de outubro de 2003. p. 9, 10 de outubro de 2003. Seção 1.

BREUIL, J.; BRISABOIS, A.; CASIN, I.; ARMAND-LEFEVRE, L.; FRÉMY, S.;COLLATZ, E. Antibiotic Resistance in Samonellae Isolated from Humans and Animals in France: Comparative data from 1994 and 1997. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. v.46, p. 965-971, 2000.

CARDOSO, M.O.; RIBEIRO, A.R.; SANTOS, R. L.; PILOTTO, F.; MORAES, H.L.S.; PIPPI SALLET.C.; ROCHA, S.L.S.; NASCIMENTO, V. P. Antibiotic Resistance in *Salmonella* Enteritidis Isolated from Broiler Carcasses. **Brazilian Journal of Microbiology**. v.37, p.299-302, 2006.

CARDINALE, E.; COLBACHINI, P.; PERRIER-GROS-CLAUDE, J.D.; GASSAMA, A.; AÏDARA-KANE, A. Dual Emergence inFood and Humans of a Novel Multiresistant Serotype of *Salmonella* in Senegal: *Salmonella* enterica subs. enterica serotype 35:c:1,2. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 39(6), p.2373-2374, 2001.

CARRAMIÑANA, J.J.; ROTA, C.; AGUSTÍN, I.; HERRERA, A. High Prevalence of multiple Resistance to Antibiotics in *Salmonella* serovars Isolated from a Poultry Slaughterhouse in Spain. **Veterinary Microbiology**. v. 104, p. 133-139, 2004.

CHANG, Y.H. Prevalence of *Salmonella* sp in poultry broilers and shell eggs in Korea. **Journal Food Protection**, v.63 (5), p.655-658, 2000.

CORTEZ, A.A.L.; CARVALHO, AC.F.B.;IKUNO, A.A.; BÜRGER, K.P.;VADLA-MARTINS, A.M.C., Resistência antimicrobina de cepas de *Salmonella* sp isoladas de abatedouros de aves. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.73, p.157-163,abr/jun.2006.

DELAZARI, I. Programa de Redução de Patógenos na Indústria Avícola e seus Reflexos na Qualidade da Carne de Aves. In: Seminário Internacional da Qualidade da Carne de Aves. Maio de 2002. Florianópolis, SC, **Anais,** 2002. p.34-38.

DANMAP 2004. **Use of Antimicrobial Agents and Occurrence of Antimicrobial Resistance in Bacteria from Food Animals, Foods and Humans in Denmark**. ISSN p.1600-2032, 2004.

DUIJKEREN, E.; WANNET, W.J.B.; *et al.* Animicrobial Susceptibilities of *Salmonella* strain isolated from humans, cattle, pigs, chickens in the Netherlands from 1984 to 2001. **Journal of Clinical Microbiology**, v.41 (8), p. 3574-3578, 2003.

DUFFY, G.; CLOAK, O.M.; O"SULLIVAN, M.G.; *et al.*The incidence and antibiotic resistance profiles of *Salmonella* spp on Irish retail meat products. **Food Microbiology**, v.16, p.623-631, 1999.

EFSA, 2004. Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on a request from the Commission related to the use of antimicrobials for the control of *Salmonella* in poultry. **The European Food Safety Authority (EFSA) Journal.** 2004. 115, 1-76

GUERRA, B.; SOTO, S.; CAL, S.; MENDOZA, M.C. Animicrobial resistance and Spread of Class 1 integrons among *Salmonella* Serotypes. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.44(8), p.2166-2169, 2000.

GREENFIELD, J.; BANKIER, J.C. Sensitivity of Freshly Isolated Bacterial Pathogens to Certain Antibiotics and Nitrofurazone. **Can. Journal Comp. Medical**, v.33, p.39-43, 1969.

HOFER, E. Epidemiologia da Salmonelose: incidência de sorotipos de *Salmonella* em aves e rações (matérias-primas) no período de1966 -1984. In: I Simpósio Catarinense de Sanidade Avícola, Setembro, 1985. Chapecó, SC. **Anais**, 1985. 187 p., p.110-124.

HOFER, E.; SILVA FILHO, S.J.; REIS, E. M. F. Prevalência de Sorovares de *Salmonella* Isolados de Aves no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.17 (2), p.55-62, 1997.

LEE, J. A.; HOBBS, B. C.; CHRISTIAN, J. H. B.**The microbiological safety of food: *Salmonellae* in poultry in Great Britain**. London, Academic Press. 1973, p. 197-206.

LIRIO, V. DE SÁ; SILVA, E.A.; STEFONI, D.; CAMARGO, D.; RECCO, E.A.P.; MALUF,Y.T.; MIYAZAWA, T.T., NEVES, D.V.D.A., OLIVEIRA, V.M.R. Freqüência de 17 sorotipos de *Salmonella* Isolados de Alimentos. **Higiene Alimentar**, v.12, p.36-42, 1998.

LOGUE, C.M.; SHERWOOD, J.S.; OLAH, P.A.; ELIJAH, L.M.; DOCKTER, M.R. The incidence of antimicrobial-resistant *Salmonella* sp on freshly processed poultry from U.S. Midwestern processing plants. **Journal Applied Microbiology**, v.94, p.16-24, 2003.

MALORNY, B.; SCHROETER, A.; HELMUTH, R. Incidence of Quinolones Resistance over the Period 1986 to 1998 in Veterinary *Salmonella* Isolates from Germany. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v.43, n.9, p.2278-2282, 1999.

MARTEL, J.; TARDY, F.; BRISABOIS, A.; LAILLER, R.; *et al.*The France Antibiotic Resistance Monitoring Programs. **International Journal of Antimicrobial Agents**. v.14, p. 275–283, 2000.

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

McGARR, C.; MITCHELL, W.C.; CARLSON, H.C.; FISH, N.A. Antimicrobial Susceptibility of *Salmonella* Isolates from the Broiler Chicken Industry in Ontario. **Can. Journal Comp. Medical**, v. 41, p.107-112.jan/1977.

McILROY, S. G. How do birds become infected by *Salmonella* sorotype? **Suplement of World Poultry.** Netherlands, p. 15-17, May, 1996.

MOREIRA, M.A.S.; MORAES, C.A. Resistance to antibiotics in Gram-negative bacteria isolated from broiler carcasses. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootecnia**, v. 54, n.1, p.1-7. 2002.

MORENO, M. A.; DOMÍNGUEZ, L.; TESHAGER, T; *et al.* Antibiotic Resistance Monitoring: The Spanish Programme. **International Journal of Antimicrobial Agents**. v.14, p. 285–290, 2000.

NASCIMENTO, V.P. Salmoneloses aviárias: Uma revisão. In: I SIMPÓSIO TÉCNICO DE MATRIZES DE CORTE. Nov., 1995. Chapecó, SC. **Anais**, 1995.133 p., p.51-62.

NASCIMENTO, V.P.; CARDOSO, M.O.; RIBEIRO, A.R.; *et al*. Prevalência e perfis de resistência de *Salmonella* isoladas de carcaças de frango frente a antimicrobianos e desinfetantes selecionados. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 19, 1997a, Rio de Janeiro, RJ. **Anais.** São Paulo: Sociedade Brasileira de Microbiologia, 1997. v. 1, 344p., p.291.

NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards). **Padronização dos Testes de Sensibilidade Antimicrobianos por Disco-difusão; Norma Aprovada** – Oitava Edição. NCCLS documento M2-A8. Wayne, Pennsylvania, USA, 2003. Disponível <http://www.anvisa.gov.br> acesso em: 10 jul. 2006.

NETO, J. P. Uso de medicamentos veterinários: Impactos na moderna avicultura. In: VII SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA. Abr., 2006. Chapecó, SC. **Anais,** 1995. 160 p., p.70-78.

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

OLIVEIRA, F.A.; BRANDELLI, A.; TONDO, E.C. Antimicrobial resistance in *Salmonella* Enteritidis from foods in human salmonellosis outbreaks in Southers Brazil. **The New Microbiologica**, v.29, p.49-54, 2006.

PALMEIRA, A. L. B. Incidência de *Salmonella* sp em farelo de soja utilizado na fabricação de rações para aves. In: XXII CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA 2003, Florianópolis. **Resumos**, Florianópolis/SC, Sociedade Brasileira de Microbiologia, 2003. MV054, 1 CD-ROM.

POPPE, J.J.; DEMCZUK, W.H.B.; HARRIS, J.E. Drugs Resistance and Biochemical Characteristcs of *Salmonella* from Turkeys. **Canadian Journal Veterinary Research,** v. 59, p. 241-248, 1995.

POPOFF, M.Y.; BOCKEMUHL, J.; GHEESLING, L.L. Supplement 2001 (no 45) to the Kauffmann – White Scheme**. Research in Microbiology**, v.155, p. 568-570, 2004.

POPOFF, M.Y. **Antigenic Formulas of Salmonella Serovars**. 8th edition. WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*. Institut Pasteur. Paris, France. 15p. 2001.

ROY, P.; DHILLON, A.S.; LLOYD, L.H. *et al.* Resuslts of Salmonella Isolation from Poultry Products, Poultry, Poultry environment, and others characterstics. **Avian Disease**. v. 46, p. 17-24, 2002.

RADU, S.; MUTAIIB., S.A.; RUSUL G.; HASSAN , Z.; YEANG L.K. Molecular characterization of Salmonella weltevreden isolated from poultry: evidence of conjugal transfer of plasmid and antibiotic resistance. **Microbios**, 104 (407): 39-47 2001

ROCHA, P.T.; MESQUITA, A.J.; *et al. Salmonella* sp em forro das caixas de transporte e órgãos de pintos de um dia. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.6, p.672-676, 2003.

SANTOS, D.M.S.; BERCHIERI JUNIOR, A.; FERNANDES, S.A.; TAVECHIO, A.T.; AMARAL, L.A., 2000. *Salmonella* em Carcaças de Frango Congeladas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.20, 39–42.

SHAHEEN, N.; FATIMA, N.; SAJID, S.U., ; GANDAPUR, A.S. Antibiogram Studies of *Salmonella* Enteritidis phage type 4 Isolates from poultry and Meat. **Journal Applied Medical College**, v.16 (4), p.55-59, 2004.

SILVA, E.N.; DUARTE, A. *Salmonella* Enteritidis em aves: retrospectiva no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Avícola,** v.2, n.2, p.85-100, 2002.

SNOEYEMBOS, G. H. Pullorum Disease. In: HOFSTADS, M.S. **Diseases of Poultry**, 8thEd. Ames:Iwoa State University Press, 1984, p.66-79.

SOUSA, M.A.; FERREIRA, E.S.; CONCEIÇÃO, G.C.Betalactamases de Espectro Ampliado (ESBLs): Um Importante Mecanismo de Resistência Bacteriana e sua detecção no Laboratóio Clínico. 63º Ed **Revista NewsLab**. 2004, p.152-174.

SOLARI, A. C. Salmonela na visão humana. In: I SIMPÓSIO TÉCNICO DE MATRIZES DE CORTE. Nov., 1995. Chapecó, SC. **Anais**, 1995. 133p., p.63.

STOCK, I.; WIEDEMANN, B. Natural antibiotic susceptibility of *Salmonella* enterica strains. **Internacional Journal of Antimicrobial Agents**, v. 16, p. 211-217, 2000.

TAVECHIO, A.T.; FERNANDES, S.A.; NEVES, B.C.; DIAS, A.M.G.; IRINO, K. Changing patterns of Salmonella serovars: Increase of *Salmonella* Enteritidis in São Paulo, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, 1996. 38: 315-322.

TRAMPEL, D. W.; HASIAK, R. J.; HOFFMAN, L.J.; DEBEY, M.C. Recovery of Salmonella from water, equipament, and carcasses in turkeys processing plants. **Journal Applied Poultry Reserch**, v.9, p.29-34, 2000.

UYTTENDAELE, M.R.; DEBEVERE, J.M.; LIPS, R.M.; NEYTS, K.D. Prevalence of *Salmonella* in poultry carcasses and their products in Belgium. **International Journal Food Microbiology**, v.40, p.1-8, 1998.

WEILL, F-X.; DEMARTIN, M.; TANDÉ, D.; *et al.*.SHV-12-Like Extended-Spectrum-Lactamase-Producing Strains of *Salmonella enterica* serotypes Babelsberg and Enteritidis isolated in France among Infants adopted from Mali. **Journal of Clinical Microbiology**. v. 42 (6), p. 2432-2437, 2004.

WILSON, I.G. Antimicrobial resistance of *Salmonella* in raw retail chickens, imported chicken portion, and humans clinical specimens. **Journal Food Protection**, v.67 (6), p.1220-1225, jun/2004.

WHO, 1997. **The Medical Impact of Antimicrobial Use in Food Animals.** Report of a WHO Meeting. Berlin, Germany, 13-17, October 1997. WHO/EMC/ZOO/97.4.

UBA. União Brasileira de avicultura aponta desafios encontrados pela avicultura do Brasil em 2006. Disponível em: < http://www.uba.org.br/hom_uba.html> Acesso em: 20 jan.2007.