

Identificação sorológica e relação filogenética de *Salmonella* spp. de origem suína¹

Roberta T. Melo^{2,3*}, Adélia R. Guimarães², Eliane P. Mendonça^{2,3}, Letícia R. Coelho^{2,3},
Guilherme P. Monteiro^{2,3}, Belchiorina B. Fonseca⁴ e Daise A. Rossi²

ABSTRACT.- Melo R.T., Guimarães A.R., Mendonça E.P., Coelho L R., Monteiro G.P., Fonseca B.B. & Rossi D.A. 2011. [Serological identification and phylogenetic relationship of *Salmonella* spp. pig origin.] Identificação sorológica e relação filogenética de *Salmonella* spp. de origem suína. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 31(12):1039-1044. Laboratório de Biotecnologia Animal Aplicada, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, Rua Ceará s/n, Bloco 2D, sala 43, Bairro Umuarama, Uberlândia, MG 38402-018, Brazil. E-mail: roberta-melo@hotmail.com

Salmonella spp. is an important zoonotic pathogen that can spread along the production chain of swines. The objective was to evaluate the incidence of *Salmonella* spp. in feces of swines in termination phase in the farm, in the pre-slaughter and environmental samples, identify the serotypes and establish a phylogenetic relationship among the isolates. Three collections were done in different batches of pigs housed in the termination pen and in the same animals after transport to the slaughterhouse totaling 90 plots and 9 environmental samples. The transport does not influenced the percentage of isolation of the microorganism ($p>0.05$). Of the total of 99 samples, 50 (50.5%) were identified as *Salmonella* spp., and was identified a variety of serovars: Agona (30%), Typhimurium (26%), Minnesota (24%), Infantis (18%) and Panama (2%). Dendrograms showed homology among isolates of different serovars grouped into clusters. The similarity was independent of the local of isolation, indicating the presence of several clones. The main sources of infection were cross-contamination between animals and environment and the consumption of contaminated feed. The diversity of strains and homology among the isolates indicates a common origin, demonstrating a need for monitoring of zoonotic bacteria and the deployment of more effective control measures for *Salmonella* spp. in swines.

INDEX TERMS: Salmonellosis, serotyping, RAPD.

RESUMO.- *Salmonella* spp. é um importante patógeno zoonótico que pode ser disseminado ao longo da cadeia produtiva de suínos. Objetivou-se avaliar a incidência de *Salmonella* spp. em fezes de suínos de terminação na granja, no pré-abate e amostras ambientais, identificar os sorovares e

estabelecer a relação filogenética entre os isolados. Foram realizadas três coletas em lotes diferentes de suínos alojados na granja de terminação e nos mesmos animais após o transporte ao frigorífico totalizando 90 parcelas e 9 amostras ambientais. O transporte não influenciou na porcentagem de isolamento do microrganismo ($p>0,05$). Das 99 amostras, 50 (50,5%) foram identificados como *Salmonella* spp., sendo identificado uma multiplicidade de sorovares: Agona (30%), Typhimurium (26%), Minnesota (24%), Infantis (18%) e Panama (2%). Os dendrogramas demonstraram homologia entre isolados dos diferentes sorovares agrupados em *clusters*. A similaridade foi independente do local de isolamento indicando a presença de vários clones. As principais fontes de infecção determinadas foram a contaminação cruzada entre animais e ambiente e o consumo de ração contaminada. A diversidade de sorovares e a ho-

¹ Recebido em 3 de fevereiro de 2011.

Aceito para publicação em 19 de junho de 2011.

² Laboratório de Biotecnologia Animal Aplicada, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Rua Ceará s/n, Bloco 2D, sala 43, Bairro Umuarama, Uberlândia, MG 38402-018, Brasil

*Autor para correspondência: roberta-melo@hotmail.com

³ Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Rua Ceará s/n, Bloco 2T, Bairro Umuarama, Uberlândia, MG 38400-902.

⁴ Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas, UFU, Av. Pará 1720, Bloco 4C, sala 218, Bairro Umuarama, Uberlândia, MG 38400-902.

mologia entre eles indicam origem comum, demonstrando necessidade de monitoramento de bactérias zoonóticas e de implantação de medidas de controle mais eficazes para *Salmonella* spp. em suínos.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Salmonelose, sorotipagem, RAPD.

INTRODUÇÃO

A salmonelose é uma das principais causas de gastroenterites em humanos veiculada por alimentos em todo o mundo. Trata-se de um importante problema de saúde pública tanto em países industrializados como em desenvolvimento (EFSA 2009, EFSA 2010, Loureiro et al. 2010).

Produtos de origem suína merecem atenção como fontes potenciais de salmoneloses que acometem humanos. A preocupação aumentou depois que surtos de infecção alimentar ocorridos na Dinamarca tiveram sua origem associada ao consumo destes produtos (Fedorka-Cray 1996). Mais recentemente, Hill et al. (2008) relataram que de 1% a 10% das salmoneloses humanas são atribuídas ao consumo de carne suína e que 17% dos suínos em idade de abate podem estar infectados por *Salmonella* spp. e 4% deles excretando o microrganismo nas fezes.

A maioria dos sorovares de *Salmonella* spp. que infectam suínos não causa doença clínica nesses animais. Todavia, mesmo animais aparentemente saudáveis podem excretar a bactéria de forma intermitente pelas fezes e, assim, contaminar o ambiente e outros animais (Castagna, Schwarz & Cardoso 2004). No caso de suínos, esta situação também pode ocorrer durante o transporte dos animais (Katja & Henrik 2003).

Segundo Rostagno et al. (2003) é amplamente aceito que os animais infectados com *Salmonella* spp. são as maiores fontes de infecção para outros animais e seres humanos. Assim, é importante o monitoramento constante com identificação dos sorovares e estabelecimento da relação epidemiológica desses ao longo da cadeia de produção (EFSA 2008).

A epidemiologia da infecção por *Salmonella* spp. em suínos é complexa, apresentando múltiplos fatores determinantes na transmissão deste microrganismo. Primariamente, as fontes de infecção podem ser animais pertencentes ao próprio grupo, animais de outros grupos da mesma granja ou fatores externos como a ração, os cuidados de manipulação pelos empregados ou o próprio ambiente da granja ou frigorífico (Van der Gaag et al. 2004).

Ao longo da cadeia de produção é possível observar a amplificação do problema, geralmente pela rápida transmissão desta bactéria a animais não infectados. Diante disso, objetivou-se conhecer as espécies, os sorotipos e a relação filogenética entre cepas de *Salmonella* isoladas de amostras ambientais e de fezes de suínos, estabelecendo possíveis vias de infecção, e ainda, se o estresse a que os animais são submetidos durante o transporte influencia na excreção deste microrganismo.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado em uma granja de terminação de suínos e em um frigorífico sob inspeção municipal localizados na região do Triângulo Mineiro, MG. Foram analisadas 90 amostras de fe-

zes coletadas por meio de *swab* retal, seis *swabs* de arrasto do ambiente dos animais e três amostras de ração, totalizando 99 parcelas.

As coletas foram realizadas nos animais na granja de terminação e nestes mesmos animais após o transporte ao frigorífico e já alojados na pocilga de espera. Foram amostrados em períodos distintos três lotes subsequentes de suínos em fase de terminação (idade de 138-140 dias) e com peso médio de 90 Kg. Em cada coleta eram incluídos quinze animais e amostras de ração e *swabs* de arrasto.

O processamento e análise das amostras foram realizados no Laboratório de Biotecnologia Animal Aplicada da Universidade Federal de Uberlândia (Labio-UFU) e a caracterização antigênica no Setor de Enterobactérias da Fundação Osvaldo Cruz (Fiocruz) no Rio de Janeiro.

O isolamento e a identificação bioquímica de *Salmonella* spp. foram realizados individualmente segundo a metodologia descrita por Michael et al. (2003). A identificação sorológica do gênero foi realizada com o antissor polivalente somático "O" (Biobrás®). A caracterização preliminar dos grupos com os antissoros monovalentes somáticos B, C e D (Biorad®) foi realizado pela metodologia de aglutinação em placa conforme protocolo recomendado no PNSA - Programa Nacional de Sanidade Avícola do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Brasil 1994). Os isolados puros em ágar nutriente foram submetidos à sorotipificação definitiva na Fiocruz.

As cepas foram submetidas à análise gênica por RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*). O protocolo utilizado foi o descrito por Oliveira et al. (2007). Para análise dos resultados foi feita comparação das cepas antigenicamente identificadas como pertencentes ao mesmo sorovar.

O DNA foi extraído por lise térmica de um volume de 5mL de um cultivo de 24 horas em BHI (*brain heart infusion*) (Difco®) e centrifugado a 12.000g por dois minutos; o sobrenadante foi desprezado. Foram adicionados 800µL de água ultrapura ao *pellet* e centrifugado novamente a 12.000g por dois minutos. O sobrenadante foi descartado e o *pellet* ressuspenso em 200µL de água ultrapura e aquecido a 95°C por 10 minutos, resfriado e, por fim, congelado para posterior utilização. A quantificação foi realizada em espectrofotômetro (Nanodrop®).

Foi utilizado o *primer* P1254 (5' CCGCAGCCAA 3'). O volume final para a reação de amplificação foi de 25µL, composto por: 100 mmol Tris HCl, 750mmol KCl pH 8 do tampão, 10mmol dNTPs (5 mmol de cada dATP, dCTP, dGTP e dTTP), 50mmol MgCl₂, 40 pmol do *primer*, 1 U de Taq DNA Polymerase 5 U/µL (Invitrogen®), 15,3µL de água ultrapura estéril e 30ng de DNA.

A amplificação em termociclador (Eppendorf®) obedeceu aos seguintes ciclos: um ciclo de 95°C por 5 minutos, seguido de 40 ciclos de 95°C por 1 minuto, 30°C por 1 minuto, 72°C por 1 minuto, e extensão final a 72°C por 5 minutos. Os produtos amplificados (5µL) foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1,5%, utilizando como padrão de peso molecular o marcador de 100pb (Invitrogen®). A reação foi realizada em paralelo com a cepa ATCC 13076 de *Salmonella* Enteritidis e incluiu um controle negativo composto de água ultrapura em substituição ao DNA alvo. Além disso, foram realizadas três repetições a fim de confirmar os padrões das bandas.

Os resultados obtidos com a tipificação antigênica foram tabulados e submetidos à estatística descritiva. Para comparar as diferentes proporções de positividade dos lotes e avaliar a incidência de *Salmonella* spp. antes e após o transporte foi utilizado o teste de McNemar com significância de 5% (Ayres 2000). As análises do RAPD foram realizadas utilizando o coeficiente de similaridade de Dice, com tolerância de 1,5% na comparação da posição de bandas e o dendograma formado com base no método UPGMA

(Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean - agrupamento pareado não ponderado baseado na média aritmética) com otimização do gel de 0,80%. Os procedimentos foram realizados com o software BioNumerics.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No total foram isoladas 50 cepas de *Salmonella* spp. (Quadro 1). Destas, 25 (50,0%) foram isoladas de fezes e duas (4,0%) de ração, ambas na granja de terminação; 22 (44,0%) nas fezes dos mesmos animais na pocilga de espera do frigorífico e, neste ambiente, uma (2,0%) recuperada por meio de *swab* de arrasto.

Quadro 1. *Salmonella* spp. isoladas de suínos, discriminadas por lote, tipo de amostra e local de colheita

Amostra	Local de isolamento	1º lote	2º lote	3º lote	Total P (%)
Fezes-Swab retal (n=45)	Granja (terminação)	9	9	7	25 (50,0)
Swab arrasto (n=3)	Granja (terminação)	0	0	0	0
Ração (n=3)	Granja (terminação)	1	1	0	2 (4,0)
Fezes-Swab retal (n=45)	Pocilga de espera	7	8	7	22 (44,0)
Swab arrasto (n=3)	Pocilga de espera	0	0	1	1 (2,0)
TOTAL		17 (34,0)	18 (36,0)	15 (30,0)	50 (100)

ⁿ Número de amostras analisadas, ^p amostras positivas para *Salmonella* spp., % percentagem de amostras positivas por amostra em relação ao total isolado.

A sorotipificação com antissoro O confirmou os 50 isolados como *Salmonella* spp. A análise com os antisoros B, C e D apresentou resultados concordantes com os obtidos na identificação oficial realizada no Laboratório de Enterobactérias da FIOCRUZ (Quadro 2).

Não houve aumento significativo (Quadro 3) nos isolamentos de *Salmonella* spp. após o transporte dos animais,

Quadro 2. Resultados da sorologia preliminar e da identificação oficial de *Salmonella* sp. isolados das amostras ambientais e de fezes de suínos

Sorologia preliminar		Caracterização Antigênica	
Sorogrupo	N (%)	Sorovar	N (%)
B	28 (56,0)	<i>S. Typhimurium</i>	13 (26,0)
		<i>S. Agona</i>	15 (30,0)
C	9 (18,0)	<i>S. Infantis</i>	9 (18,0)
D	1 (2,0)	<i>S. Panama</i>	1 (2,0)
<i>Salmonella</i> spp.	12 (24,0)	<i>S. Minnesota</i>	12 (24,0)

^N (%) número de amostras positivas de cada sorovar e percentagem em relação a o total de cepas de *Salmonella* spp.

indicando que o transporte não influenciou na percentagem de isolamento ($p=0,6625$ e $p=0,5403$). O decréscimo no número de excretadores de *Salmonella* spp. observado nas fezes ao abate, não deve minimizar a importância dos animais provenientes de lotes positivos que chegam ao frigorífico. Estudos realizados anteriormente (Rostagno et al. 2003) demonstraram a importância da contaminação cruzada de animais negativos que chegam ao frigorífico, a partir de animais portadores que estão excretando *Salmonella* spp. nas fezes.

Quadro 3. Comparação do isolamento de *Salmonella* sp. das fezes de suínos na granja de terminação com o isolamento da bactéria nas fezes dos mesmos animais, na etapa de pré-abate no frigorífico pelo teste de McNemar

Frigorífico Granja	Positivos	Negativos	Total
Positivos	12	13	25
Negativos	10	10	20
TOTAL	22	23	45

O Quadro 4 demonstra os sorovares identificados separadamente por suíno analisado. *S. Agona* foi o sorovar mais frequente, seguido por *S. Typhimurium*. Todos os sorovares foram isolados tanto na granja quanto no frigorífico, com exceção de *S. Panama* que não foi encontrada em amostras de fezes coletadas na granja de terminação (Quadro 5).

A diversidade de sorovares identificados em fezes suínas também foi observada em outros estudos. Bessa, Costa & Cardoso (2004), no Rio Grande do Sul, identificaram 26 sorovares diferentes em 226 isolados de 300 suínos abatidos em três frigoríficos. Os sorovares mais prevalentes foram: *Typhimurium* (24,3%), *Agona* (19,9%), *Derby* (13,2%) e *Bredeney* (12%). *S. Panama* e *S. Infantis* também foram identificados, porém com menor frequência (5,75% e 0,88%, respectivamente). Weiss et al. (2002) encontraram oito diferentes sorovares de *Salmonella* em amostras de fezes coletadas por *swab* retal. As amostras foram colhidas na granja de terminação e num frigorífico no Rio Grande do Sul. Os sorovares identificados foram *Agona*, *Bredeney*, *Lexington*, *London*, *Mabandaka*, *Panama* e *Schwartzengrund*.

Os sorovares *Typhimurium*, *Agona* e *Infantis* foram os mais isolados neste estudo. De acordo com Weiss et al. (2002) e Loureiro et al. (2010), estes sorovares são os mais associados a casos de salmonelose humana no Brasil. O alto índice de *S. Agona* atenta para o risco relacionado à doença clínica, junto a *S. Derby*, que têm aumentado significativamente, principalmente nos Estados Unidos (Oliveira & Carvalho 2003). Também, *S. Typhimurium*, o segundo sorovar mais isolado, tem sido relatado em casos de enterocolite no rebanho, já que este sorovar juntamente com *S. Choleraesuis* são os mais incriminados em doença clínica (Hurd et al. 2001). Porém, durante as coletas não foi observada ou relatada pelos criadores sintomas de salmonelose nos animais em terminação.

De forma geral, a incidência de um mesmo sorovar pôde ser associada ao lote. Somente os sorovares *S. Agona* e *S. Infantis* foram detectadas em lotes diferentes sugerindo possível negligência a normas de biossegurança, que pode contribuir para a manutenção do microrganismo no ambiente. Assim, é possível que os animais amostrados já estivessem infectados com esses sorovares em etapas de criação anteriores como desmame e creche. Esta hipótese concorda com Muller et al. (2009), que relataram que as fontes mais importantes de contaminação por *Salmonella* na produção de suínos são o alojamento de animais portadores que sofreram a infecção na fase de creche e a contaminação residual das instalações.

Das 33 amostras provenientes dos animais analisadas na primeira colheita, *Salmonella* spp. foi isolada em 17

Quadro 4. Identificação antigênica dos sorovares de *Salmonella* por suíno amostrado, de acordo com o local de isolamento e com a coleta

Primeira coleta			Segunda coleta			Terceira coleta		
Animal	Granja Terminação	Pocilga Espera	Animal	Granja Terminação	Pocilga Espera	Animal	Granja Terminação	Pocilga Espera
1	<i>Typhimurium</i>	N	16	Infantis	Infantis	31	N	Minnesota
2	N	<i>Typhimurium</i>	17	N	Infantis	32	N	N
3	N	N	18	N	N	33	N	Minnesota
4	<i>Typhimurium</i>	N	19	N	Agona	34	Minnesota	Minnesota
5	<i>Typhimurium</i>	<i>Typhimurium</i>	20	Agona	Panama	35	N	Infantis
6	<i>Typhimurium</i>	N	21	Agona	Agona	36	Minnesota	Minnesota
7	N	<i>Typhimurium</i>	22	Infantis	N	37	Minnesota	N
8	<i>Typhimurium</i>	<i>Typhimurium</i>	23	N	N	38	Minnesota	N
9	N	Agona	24	N	Infantis	39	Infantis	N
10	Agona	Agona	25	Agona	N	40	N	N
11	N	<i>Typhimurium</i>	26	Agona	Agona	41	N	Infantis
12	Agona	N	27	Agona	N	42	Minnesota	Minnesota
13	<i>Typhimurium</i>	N	28	N	N	43	N	N
14	<i>Typhimurium</i>	N	29	Agona	Agona	44	N	N
15	N	N	30	Infantis	N	45	Minnesota	N

^N Não houve isolamento.

Quadro 5. Sorovares de *Salmonella* isolados em granja de terminação e pocilga de espera

Sorovar	Granja de terminação	Pocilga de espera (frigorífico)	Total N (%)
	N (%)	N (%)	
<i>S. Typhimurium</i>	8 (16,0)	5 (10,0)	13 (26,0)
<i>S. Agona</i>	9 (18,0)	6 (12,0)	15 (30,0)
<i>S. Infantis</i>	4 (8,0)	5 (10,0)	9 (18,0)
<i>S. Minnesota</i>	6 (12,0)	6 (12,0)	12 (24,0)
<i>S. Panama</i>	0	1 (2,0)	1 (2,0)
TOTAL	27 (54,0)	23 (46,0)	50 (100)

^N (%) Número de amostras positivas de cada sorovar e porcentagem em relação ao total de amostras identificadas como *Salmonella* spp.

(51,51%) ocasiões, sendo 16 provenientes das fezes e uma da ração. *S. Typhimurium* representou 76,47% (13/17) dos isolamentos e *S. Agona*, 23,53% (4/17) das cepas. Na segunda colheita, a positividade para *Salmonella* foi de 54,54% (18/33). Destas, 61,11% (11/18) foram identificadas sorologicamente como *S. Agona*, 33,33% (6/18) como *S. Infantis* e 5,56% (1/18) como *S. Panama*. *Salmonella* sp. foi isolada em 45,45% (15/33) amostras na terceira colheita, sendo 80,0% (12/15) identificadas sorologicamente como *S. Minnesota* e 20,0% (3/15) como *S. Infantis*.

A homologia nos isolados de um mesmo sorovar foi comparada pelo coeficiente de similaridade de Dice e os dendrograma estão ilustrados na Figura 1.

Foram discriminados dois grupos clonais diferentes em *S. Typhimurium*, ambos oriundos de animais do mesmo lote. O primeiro perfil é composto por clones presentes nas fezes dos animais quando estavam na granja e o segundo, no frigorífico. A similaridade de 88,5% entre os grupos denota uma alta proximidade genética, podendo ser originados de um mesmo ponto crítico. Dois isolados apresentaram perfil distinto, porém com similaridade maior que 75% com os demais (Fig.1A).

S. Agona apresentou um padrão diferenciado: ambos os grupos clonais apresentaram isolados de dois lotes diferentes e em fezes presentes tanto na granja quanto no frigorífico. A homologia de 78,7% também indica baixa variabilidade gênica entre as estirpes (Fig.1B).

As altas porcentagens de similaridade encontradas nas amostras de ração para *S. Typhimurium* e *S. Agona*, 92,3% e 100% respectivamente, indicam que possivelmente esta foi a fonte primária que deu origem à infecção dos animais na granja (Fig.1A,B). A importância da ração como veículo de infecção para os suínos concorda com resultados de estudos de vários pesquisadores (Stärk et al. 2002, Lo Fo Wong et al. 2004, Kich et al. 2005, Silva et al. 2006).

S. Minnesota apresentou um grupo clonal com 10 estirpes, todos oriundos do terceiro lote. Dois isolados revelaram perfis distintos dos demais (Fig. 1C). A cepa isolada em *swab* de arrasto da pocilga no frigorífico exibiu similaridade de 80% com o grupo principal. Portanto, é provável que a infecção anterior dos animais deu origem à contaminação do ambiente do frigorífico.

A maior similaridade foi observada para *S. Infantis*, sendo todos os isolados classificados como clones (Fig. 1D). É possível que este sorovar tenha sua origem associada à contaminação ambiental ou à uma infecção dos animais em etapas anteriores à terminação, como o desmame e a creche, já que os isolados do segundo e terceiro lote pertencem ao mesmo grupo clonal. Esta analogia entre isolamento em amostra ambiental e nos animais deve ser analisada levando-se em consideração que somente uma amostra foi coletada, podendo não refletir com segurança a ausência do microrganismo no ambiente.

O baixo isolamento de *S. Panama* indica que provavelmente está presente no ambiente do frigorífico, porém em baixos números, de forma que só foi recuperada em uma amostra.

Deve-se considerar a importância da contaminação cruzada entre os animais. De acordo com Hurd et al. (2001), a presença de um suíno infectado caracteriza uma possível fonte de transmissão para os demais que adquiram o microrganismo durante o transporte ao frigorífico ou mesmo nas baias de descanso, indicando risco de contaminação das carcaças e, consequentemente, do produto final.

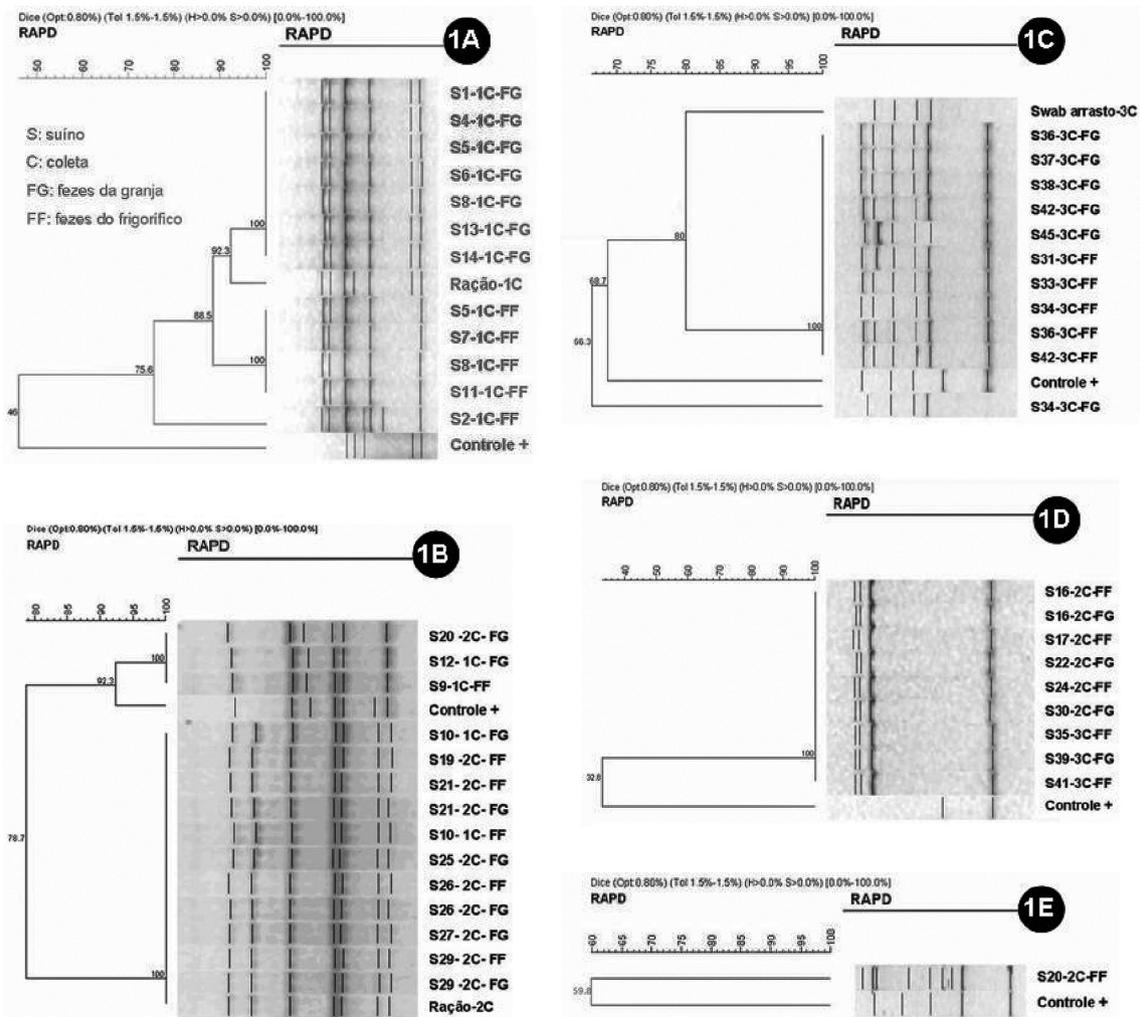


Fig.1. Dendrogramas dos 50 isolados de *Salmonella* discriminados por sorovar. (1A) Isolados de *S. Typhimurium*. (1B) *S. Agona*. (1C) *S. Minnesota*. (1D) *S. Infantis*. (1E) *S. Panama*. (S) suíno, (C) coleta, (FG) isolados de fezes dos animais na granja, (FF) isolados de fezes dos animais no frigorífico.

CONCLUSÕES

A análise filogenética denotou a influência de diferentes fatores, como a contaminação cruzada entre os suínos e o ambiente e a ração contaminada, na existência e permanência de *Salmonella* spp. nos animais.

A diversidade de espécies e as diferentes fontes de infecção identificadas no presente estudo reforçam a importância de um monitoramento rigoroso que permita a promoção de controles adequados de *Salmonella* spp. no processo produtivo de suínos.

Agradecimentos.- À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig) pelo financiamento deste estudo.

REFERÊNCIAS

- Ayres M. 2000. Aplicações Estatísticas nas Áreas das Ciências Biológicas e Médicas. Sociedade Civil Mamirauá, Belém. 272p.
- Bessa C.M., Costa M. & Cardoso M. 2004. Prevalência de *Salmonella* sp em suínos abatidos em frigoríficos do Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 24:2:80-84.
- Brasil 1994. Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria Ministerial nº 193, de 19 de Setembro de 1994. Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA). Disponível em <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta>> Acessado em 25 out. 2010.
- Castagna S.M.F., Schwarz C.W. & Cardoso M. 2004. Presença de *Salmonella* sp. no trato intestinal e em tonsilas/linfonodos submandibulares de suínos ao abate. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 56(3):300-306.
- European Food Safety Authority 2008. Report of the Task Force on Zoonoses Data Collection on the Analysis of the Baseline Survey on the Prevalence of *Salmonella* in Slaughter Pigs. Part A. *Salmonella* prevalence estimates. *EFSA J.* 111p.
- European Food Safety Authority 2009. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses and Zoonotic Agents in the European Union in 2007. *EFSA J.* 223p.
- European Food Safety Authority. 2010. Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Campylobacter* in broiler batches and of *Campylobacter* and *Salmonella* on broiler carcasses in the EU, 2008. *EFSA J.* 8(3). 1503p.
- Fedoraka-Cray P.J. 1996. The connection between *Salmonella*, swine, and food safety. In: *Proc. Swine Conference*, Lincoln, Nebraska, p.25-45.
- Hill A.A., Snary E.L., Arnold M.E., Alban L. & Cook A. J. 2008. Dynamics of *Salmonella* transmission on British pig grower-finisher farm: A stochastic model. *Epidemiol. Infect.* 136(3):320-333.
- Hurd H.S., Gailey J.K., McKean J.D. & Rostagno M.H. 2001. Rapid infection in market-weight swine following exposure to a *Salmonella* Typhimurium-contaminated environment. *Am. J. Vet. Res.*, 62:8:1194-1197.
- Katja R. & Henrik J.A. 2003. Factors of significance for pork quality: A review. *Meat Sci.* 64:219-237.

- Kich J.D., Mores N., Piffer I.A., Coldebella A., Amaral A., Ramminger L. & Cardoso M. 2005. Fatores associados à soroprevalência de *Salmonella* em rebanhos comerciais suínos. *Ciencia Rural* 35(2):398-405.
- Lo Fo Wong D.M.A., Dahl J., Wingstrand A., Van der Wolf P.J., Von Altrock A. & Thorberg B.M. 2004. A European longitudinal study in *Salmonella* seronegative and seropositive-classified finishing pig herds. *Epidemiol. Infect.* 132(5):903-914.
- Loureiro E.C.B., Marques N.D.B., Ramos F.L.P., Reis E.M.F., Rodrigues D.P. & Hofer E. 2010. *Salmonella* serovars of human origin identified in Pará State, Brazil from 1991 to 2008. *Revta Pan-Amaz. Saude* 11:93-100.
- Michael G., Simoneti R., Costa M. & Cardoso M. 2003. Comparison of different selective enrichment steps to isolate *Salmonella* sp. from feces of finishing swine. *Braz. J. Microbiol.* 34:138-142.
- Muller M., Schwarz P., Kich J.D. & Cardoso M. 2009. Perfil sorológico e de isolamento de *Salmonella* sp. em suínos no início da terminação e ao abate. *Ciênc. Anim. Bras.* 10(3):931-937.
- Oliveira C.J.B. & Carvalho L.F.O.S. 2003. Infecções por *Salmonella* em suínos: panorama e perspectivas. *Suinoc. Ind.* 3:35-39.
- Oliveira F.A., Frazzon A.P.G., Brandelli A. & Tondo E.C. 2007. Use of PCR-ribotyping, RAPD, and antimicrobial resistance for typing of *Salmonella enteritidis* involved in food-borne outbreaks in Southern Brazil. *J. Infect. Develop. Count.* 1(2):170-176.
- Rostagno M.H., Hurd H.S., McKean J.D., Ziemer C.J., Gailey J.K. & Leite R.C. 2003. Preslaughter holding environment in pork plants is highly contaminated with *Salmonella enteric*. *Appl. Environ. Microbiol.* 69:4489-4494.
- Silva L.E., Gotardi C.P., Vizzotto R., Kich J.D. & Cardoso M.R.I. 2006. Infecção por *Salmonella* sp. em um sistema integrado de produção de suínos. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 58(4):455-461.
- Stärk K.D.C., Wingstrand A., Dahl J., Mogelmoosa V. & Lo Fo Wong D.M. 2002. Differences and similarities among experts' opinions on *Salmonella enteric* dynamics in swine pre-harvest. *Prev. Vet. Med.* 53:7-20.
- Van der Gaag M.A., Vos F., Saatkamp H.W., Van Boven M., Van Beek P. & Huirne R.B.M. 2004. A state-transition simulation model for the spread of *Salmonella* in the pork supply chain. *Cent. Eur. J. Oper. Res., Amsterdam*, 156:782-798.
- Weiss L.H.N., Nonig R.B. Cardoso M. & Costa M. 2002. Ocorrência de *Salmonella* spp. em suínos de terminação no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 22:104-108.