

**Salmonelose ocasionada por produtos de origem animal e suas implicações para saúde pública: revisão de literatura****Salmonellosis occasioned by products of animal origin and its implications for public health: literature review**

DOI: 10.34188/bjaerv3n4-075

Recebimento dos originais: 20/08/2020

Aceitação para publicação: 20/09/2020

**Rogério Ferreira Segundo**

Graduado em Medicina Veterinária pela Universidade Federal do Acre – UFAC

Médico veterinário autônomo

Endereço: Rua Andréia, 5559, Aponiã, Cep:76824090 Porto Velho, Brasil

E-mail: rogeriofsegundo@hotmail.com

**Cassio Toledo Messias**

Doutor em Ciência Animal - PPGESPA - UFAC

Instituição: Universidade Federal do Acre - UFAC

Endereço: BR 364, km 04 Distrito Industrial, CEP 69915-800, Rio Branco, Acre, Brasil

E-mail: ctoledomessias@gmail.com

**Tamyres Izarely Barbosa da Silva**

Doutora em Ciência Veterinária - UFRP

Instituição: Universidade Federal do Acre - UFAC

Endereço: BR 364, km 04 Distrito Industrial, CEP 69915-800, Rio Branco, Acre, Brasil

E-mail: tamyres\_ibs@hotmail.com

**Henrique Jorge de Freitas**

Doutor em Ciência Animal - UFLA

Instituição: Universidade Federal do Acre - UFAC

Endereço: BR 364, km 04 Distrito Industrial, CEP 69915-800, Rio Branco, Acre, Brasil

E-mail: henrique.freitas@ufac.br

**Danielle Saldanha de Souza Araújo**

Mestranda do programa de pós-graduação em Sanidade e Produção Animal Sustentável na Amazônia - PPGESPA

Instituição: Universidade Federal do Acre - UFAC, Centro de Ciências Biológicas e da Natureza - CCBN

Endereço: BR 364, km 04 Distrito Industrial, CEP 69915-800, Rio Branco, Acre, Brasil

E-mail: dani-saldanha@live.com

**Patrícia Gelli Feres de Marchi**

Doutora em Medicina Veterinária Preventiva - UNESP - Jaboticabal/SP.

Instituição: Universidade Federal do Acre - UFAC

Endereço: BR 364, km 04 Distrito Industrial, CEP 69915-800, Rio Branco, Acre, Brasil

E-mail: patriciamarchi.ufac@gmail.com

## Lidiane Assis Silva

Doutora em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas) - UNESP - Jaboticabal/SP.  
 Instituição: Universidade Federal do Acre - UFAC  
 Endereço: BR 364, km 04 Distrito Industrial, CEP 69915-800, Rio Branco, Acre, Brasil  
 E-mail: lidiane@ufac.br

## Adriano Melo de Queiroz

Mestre em Ciência Animal - PPGESPA - UFAC  
 Instituição: Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Acre –IFAC, campus Sena  
 Madureira/AC  
 Endereço: Rua Francisca Souza da Silva, nº 318, Getúlio Nunes Sampaio, CEP: 69940-000, Sena  
 Madureira, AC. Brasil  
 E-mail: adriano.queiroz39@gmail.com

## RESUMO

A *Salmonella* foi isolada pela primeira vez em 1886, inicialmente foi criada uma forma de classificação que posteriormente teve que ser alterada. A atual classificação taxonômica, criada em 1933, se baseia por identificação molecular de antígenos, apresentando 3 espécies e 6 subespécies. Já foram identificados mais de 2.500 sorovares diferentes, sendo mais de 50% da subespécie *enterica*. A *Salmonella* é uma bactéria pertencente à família Enterobacteriaceae, Gram-negativa, cosmopolita, com tropismo pelo ambiente intestinal e muitas vezes acaba contaminando alimentos, conseqüentemente animais e pessoas, sendo responsável por frequentes intoxicações alimentares. Com o simples cozimento é possível eliminá-la, mesmo assim a prevalência de casos de intoxicações alimentares se mostra alto. Existe uma crescente preocupação com relação à resistências dessas bactérias aos antibióticos, isso se deve ao uso indiscriminado de antimicrobianos em animais de produção e pacientes. As principais fontes de infecção são o ambiente, água, mas principalmente os alimentos de origem animal, estes, são os principais responsáveis por causarem distúrbios aos consumidores. A doença ocorre quando a *Salmonella* é ingerida em quantidade considerável e se multiplica nas células intestinais, liberando toxinas, destruindo células intestinais, desencadeando respostas inflamatórias e por fim ocasionando quadros de diarreia moderados, futuramente, febre, tenesmos e dores abdominais. Em casos extremos pode vir a ocorrer a disseminação, ocasionando quadros de septicemia e inclusive o óbito. A detecção desse agente em alimentos e amostras biológicas é oficialmente feito por cultivo bacteriológico, um método trabalhoso e lento, portanto diversas pesquisas buscam meios alternativos de diagnosticar de forma rápida, prática e eficiente essa bactéria. A legislação está em constante mudança para garantir ao consumidor produtos cada vez mais isentos de riscos, porém nem sempre é possível evitar completamente a salmonelose, portanto medidas de controle são essenciais para controlar a doença, como higiene de utensílios, cozimento adequado dos alimentos de risco. Enquanto programas de controle nas indústrias e granjas não forem mais efetivos esse problema irá permanecer. Esse trabalho reúne um acervo de informações de diversos órgãos de fiscalização, agências reguladoras, artigos científicos, teses, dissertações, livros, manuais e agências de notícias para um aprofundamento sobre a *Salmonella*, bactéria de grande importância na saúde pública por causar distúrbios gastrointestinais em consumidores de produtos de origem animal, principalmente de aves.

**Palavras-chave:** Toxinfecções, intoxicação alimentar, *Salmonella*.

## ABSTRACT

Salmonella was isolated for the first time in 1886, initially a form of classification was created which later had to be changed. The current taxonomic classification created in Salmonella was isolated for the first time in 1886. Initially, a form of classification was created that had to be changed later. The current taxonomic classification, created in 1933, is based on molecular identification of antigens,

presenting 3 species and 6 subspecies. More than 2,500 different serovars have been identified, more than 50% of the enteric subspecies. *Salmonella* is a gram-negative, cosmopolitan bacterium belonging to the Enterobacteriaceae family, with tropism for the intestinal environment and often ends up contaminating food, consequently animals and people, being responsible for frequent food poisoning. With simple cooking, it is possible to eliminate it, even so, the prevalence of cases of food poisoning is high. There is growing concern about the resistance of these bacteria to antibiotics. This is due to the indiscriminate use of antimicrobials in farm animals and patients. The main sources of infection are the environment, water, but mainly animal foods. These are the main responsible for causing disturbances to consumers. The disease occurs when *Salmonella* is ingested in a considerable amount and multiplies in the intestinal cells, releasing toxins, destroying intestinal cells, triggering inflammatory responses, and finally causing moderate diarrhea, in the future, fever, tenesmus, and abdominal pain. In extreme cases, dissemination may occur, causing septicemia and even death. The detection of this agent in food and biological samples is officially done by bacteriological cultivation, a laborious and slow method. Therefore several researchers look for alternative ways to diagnose this bacterium in a fast, practical, and efficient way. The legislation is constantly changing to guarantee consumers increasingly risk-free products. But it is not always possible to completely avoid salmonellosis, so control measures are essential to control the disease, such as utensil hygiene, proper cooking of high-risk foods. . As long as control programs in industries and farms are no longer effective, this problem will remain. This work brings together a collection of information from several inspection bodies, regulatory agencies, scientific articles, theses, dissertations, books, manuals, and news agencies for an in-depth look at *Salmonella*, a bacterium of great importance in public health because it causes gastrointestinal disorders in consumers of products of animal origin, mainly of birds.

**Keywords:** Toxinfections, Food Poisoning, *Salmonella*.

## 1 INTRODUÇÃO

A *Salmonella* spp. é um agente infeccioso que pode vir a acometer pessoas a partir de alimentos contaminados, sendo a carne de frango e ovos os maiores disseminadores. Ela gera distúrbios gastrointestinais, muitas vezes auto limitante, porém o quadro pode se agravar, podendo causar até a morte (BRASIL, 2008). Segundo a World Health Organization (2013) a salmonelose é uma das toxinfecções mais comuns, com mais de dez milhões de casos anuais em humanos (BRASIL, 2008).

No Brasil a produção de ovos e carne de frango vem crescendo em um ritmo acelerado, segundo a ABPA (2015), em 2014 a produção foi de 37,2 bilhões ovos, sendo que 99% deles são destinados ao mercado interno. Já a produção de carne de frango foi de 12,69 milhões de toneladas, produzidas em território nacional, no mesmo ano. Sendo que 67,7% dessa carne é destinada ao consumo nacional.

Com um aumento considerado na produção de ovos e carne, concomitante com seu crescente consumo, as medidas de controle sanitário vêm se tornando cada vez mais desafiadoras. Órgãos mundiais de regulamentação do comércio e saúde pública têm a responsabilidade de se atualizar sobre as possíveis enfermidades e criar medidas para combatê-las (BRASIL, 2008).

O agente causador da salmonelose pertence ao gênero *Salmonella*, essa bactéria possui afinidade com o intestino, colonizando esse órgão, podendo causar distúrbios entéricos. A sintomatologia geralmente é aguda, apresenta quadro febril, dores abdominais, diarreia, náuseas e vômitos. Sua transmissão principal é através de alimentos contaminados, diretamente ou indiretamente.

O objetivo deste trabalho, foi realizar um levantamento bibliográfico. Buscando-se abordar os problemas, suas possíveis causas e consequências, a legislação vigente, fatores que impedem o alcance das metas e as possíveis soluções, prevenções e controle. Reunindo um acervo de informações advindas de diversos órgãos de fiscalização, agências reguladoras, artigos científicos, teses, dissertações, livros, manuais e agências de notícias para um aprofundamento sobre essa importante bactéria, que causa enormes prejuízos econômicos para as indústrias, países e consumidores.

## **2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 HISTÓRICO**

Daniel Salmon foi médico veterinário e trabalhou no U.S. Department of Agriculture, ganhou o primeiro grau de Veterinário concedido nos Estados Unidos (ZIMMERMANN; FRANKLIN, 1990). Salmon & Smith (1886) isolaram o microrganismo, que posteriormente foi denominado de *Salmonella Choleraesuis*, este sorotipo era muito comum em plantéis suínos na época. O nome gênero *Salmonella* foi dado em homenagem à Daniel Salmon que isolou pela primeira vez o microrganismo *Salmonella enterica* sorovar Choleraesuis. Nessa época a nomenclatura seguia as condições clínicas ou o hospedeiro em que o microrganismo era isolado (BRASIL, 2011).

### **2.2 ETIOLOGIA**

#### **2.2.1 Taxonomia**

O gênero *Salmonella* foi designado pela primeira vez em 1900, por Lignières. A nomenclatura dada na época era relacionada somente ao hospedeiro e a manifestação clínica. Porém, observou-se que diversos sorotipos não possuíam uma etiologia específica, portanto ocorriam casos em que sorovares de hospedeiros distintos recebiam uma mesma denominação, o que desrespeitava a ideia inicial (BRASIL, 2011).

Até que em 1920 microbiologistas, em especial Fritz Kauffman, em Copenhagen e Philip Bruce White, em Londres, uniram a taxonomia, sendo reconhecidos por seus trabalhos em 1933. A partir de então a nomenclatura passou a utilizar métodos clássicos e métodos moleculares para denominar as bactérias desse gênero. Acabando com os problemas taxonômicos anteriores. (BRASIL,

2011). O esquema de classificação foi denominado de *Kauffman-White*, que se baseia na identificação dos antígenos “O”, “H” e “Vi” (HIRSH, 2012).

A porção polissacarídica dos lipopolissacarídeos são um dos mais importantes fatores para determinar a espécie. A quantidade e o tipo de açúcar associado à ligação entre eles caracterizam os antígenos virulentos, denominados “O”. Existem também antígenos associados ao flagelo, denominados “H”, pertencentes à maioria das salmonelas, e por fim pode ocorrer a presença do antígeno “Vi”, este, pertencente apenas às poucas bactérias desta espécie que possuem cápsula. Todos esses antígenos auxiliam na identificação da espécie (HIRSH, 2012).

Os antígenos “O” são redigidos por números arábicos e caracterizam os sorogrupos, logo esse antígeno é comum às várias salmonelas. O antígeno Vi só existe em 3 sorotipos: *S. Typhi*, *S. Paratyphi*, *S. Dublin* (FERREIRA & CAMPOS, 2008).

No início, os sorovares eram considerados como espécies, redigidos, portanto, em itálico, a *Salmonella enterica* sorovar Schwarzengrund era redigida como *Salmonella schwarzengrund*. Atualmente isso não ocorre, pois o sorovar não é considerado espécie, logo, não pode ser redigido em itálico (BRASIL, 2011).

Seguindo o atual modelo taxonômico se tomarmos como exemplo a *Salmonella enterica* (nesse caso subespécie *salamae* e sorovar Typhimurium), poderia ser redigida de 3 formas: *Salmonella enterica* subsp. *salamae* sorovar Typhimurium, *Salmonella* sorovar Typhimurium ou *Salmonella* Typhimurium. Note que momento algum o sorovar foi redigido em itálico. O último exemplo é mais simples, logo, acaba sendo o mais utilizado na literatura, embora os demais também estejam corretos (BRASIL, 2011).

Atualmente o gênero *Salmonella* apresenta 3 espécies e 6 subespécies *S. subterrânea*, *S. bongori*, *S. enterica* (com as subespécies *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *houtenae*, e a *indica*). Até o momento mais de 2.500 variantes (sorovares, sorovars ou sorotipos) com diferentes caracterizações de seus antígenos foram catalogadas, sendo cada uma tratada como uma espécie por suas particularidades. Sua diferenciação é dada pelos antígenos somáticos (O) e os flagelares (H) e até Capsulares (Vi) (BRASIL, 2012).

Conforme as classificações dos mais de 2.500 sorovares foram ocorrendo, observou-se que mais da metade são pertencentes à subespécie *enterica* (Quadro 1). Cerca de 99,5% dos sorotipos isolados mais comuns, se encontram na subespécie *enterica*, o que é confirmado no Quadro 1 e no Quadro 2 (FERREIRA & CAMPOS, 2008; GUIBOURDENCHE, 2010).

Quadro 1. Distribuição do número de sorovares de acordo com a espécie de *Salmonella*

Espécies	<i>S. entérica</i>						<i>S. bongori</i>	<i>S. subterranea</i>
	<i>enterica</i>	<i>salamae</i>	<i>arizonae</i>	<i>diarizonae</i>	<i>houtenae</i>	<i>indica</i>		
Sorovares	1.547	513	100	341	73	13	23	Sorovar da espécie <i>bongori</i>

Fonte: GUIBOURDENCHE et al. (2010)

Quadro 2. Sorotipos de maior significado clínico e sua porcentagem

Espécie	Subespécie	Nº de Sorotipos	Porcentagem (do total de 2.501)
<i>S. enterica</i>	I	1.478	59,9%
<i>S. enterica</i>	II	498	19,91%
<i>S. enterica</i>	IV	71	2,83%
<i>S. enterica</i>	IIIb	327	13,07%
<i>S. enterica</i>	VI	12	0,47%
<i>S. enterica</i>	IIIa	94	3,75%
<i>S. bongori</i>	-	21	0,83%

Fonte: FERREIRA & CAMPOS (2008)

No Quadro 1 é possível observar o número de sorovares para cada subespécie de salmonela. Sendo que a *Salmonella subterranea* é mais recente, foi isolada de sedimento coletado de região aquífera em Oak Ridge, EUA. Sua sequência de DNA ribossomal mostrou que essa bactéria apresentou maior similaridade (96,4%) com *Salmonella bongori*, alguns autores a consideram como um sorovar da *S. bongori* (SHELOBOLINA et al., 2004). O quadro 2 apresenta os sorotipos isolados de maior significado clínico, aonde a *S. enterica* I foi a mais isolada e a espécie *S. enterica* foi isolada 99,93% das vezes (FERREIRA & CAMPOS, 2008).

Além dos sorovares determinados pelos antígenos, é possível realizar também a fagotipificação dos sorotipos, que consiste em um método de tipificação importante no contexto epidemiológico, diferenciando as cepas de salmonela dentro dos próprios sorotipos (YAN et al., 2003). Essa técnica consiste na determinação de qual bacteriófago (vírus especializados em infectar bactérias) a cepa apresenta susceptibilidade. Esses bacteriófagos infectam somente membros de uma espécie em particular ou mesmo de determinadas linhagens dentro da espécie, causando a sua lise celular após a infecção (TORTORA et al., 2012).

Existem outras formas de classificar as salmonelas, por exemplo, quanto à especificidade de hospedeiro. Divide-se a *Salmonella* em 3 grupos: as causadoras da febre entérica no homem (*S. Tiphys* e *S. Paratiphys*); as causadoras de febre entérica nos animais, dentre outras patologias (alguns exemplos são: *S. Dublin* em bovinos, *S. Choleraesuis*, *S. Typhisuis* em suínos; *S. Pullorum* e *S. Gallinarum* em aves e *S. Abortusequi* em eqüinos) e o grupo das salmonelas zoonóticas causadoras

das DTAs (Doenças transmitidas por alimentos) que inclui a maioria dos sorovares de salmonelas causadoras de gastroenterites, esse último grupo possui maior relevância nesse estudo (BRASIL, 2012).

### 2.2.2 Gênero *Salmonella*

*Salmonella* é uma enterobactéria encontrada em aves, répteis e mamíferos vivos, podendo acometer o homem, animais selvagens e até insetos (HOLT, 2006; EFSA 2015; FERREIRA & CAMPOS, 2008). Essas bactérias são pertencentes à família Enterobacteriaceae, possuem forma de bastonetes, são Gram negativas, sendo a maioria móveis, são anaeróbios facultativos e não formam esporos. Algumas são capsulares, portanto apresentam o antígeno capsular Vi (de virulência) (BRASIL, 2011; BRASIL, 2012; HIRSH, 2012; FERREIRA & CAMPOS, 2008; MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2009).

Com exceção dos sorovares *S. Gallinarum* e *S. Pullorum* os demais formam ácido e gás a partir da glicose. São capazes de fermentar a arabinose, maltose, manitol, manose, ramnose, sorbitol, trealose, xilose e dulcitol. A capacidade de fermentação da lactose, por exemplo, não é muito comum nas cepas de importância clínica, mas pode ocorrer por transferência plasmidial (plasmídios lac+), o que auxilia bastante na identificação de colônias em meios que contenham esse açúcar (FERREIRA & CAMPOS, 2008; BRASIL, 2011; (BRASIL, 2012).

São oxidase negativa, catalase positiva e ureia negativa, produzem gás sulfídrico reduzindo o enxofre com auxílio da cisteína desulfidrase. São capazes de descarboxilar os aminoácidos lisina e ornitina além de reduzirem o nitrato a nitrito. Utilizam o citrato como única fonte de carbono, podendo ocorrer variações em função do sorovar (FERREIRA & CAMPOS, 2008; BRASIL, 2011; BRASIL, 2012).

Salmonelas invasivas secretam sideróforos, a enterobactina, que vai remover o ferro das proteínas quelantes de ferro do hospedeiro, não se sabe o motivo disto ocorrer no interior das células do hospedeiro (HIRSH, 2012).

### 2.2.3 Resistência

As salmonelas são relativamente resistentes aos fatores ambientais, o pH ideal é entre 7.0 e 7.5 (porém ela pode se estabelecer nos extremos, 3.8 a 9.5, graças a RpoS contida na RNA-polimerase que transcreve genes responsáveis pela tolerância ácida). A sua temperatura ideal é de 35°C a 43°C (podendo resistir de 5°C a 46°C), com atividade hídrica  $\geq 0,94$  podendo variar de acordo com a cepa (BRASIL, 2011; HIRSH, 2012).

Em um estudo de Decker (2014) foi demonstrado que a bactéria é capaz de se desenvolver até 21 vezes mais rapidamente em temperaturas de 35°C do que a temperatura de resfriamento (nesse caso 10°C).

As salmonelas resistem bem a processo de salmoura (20%) podendo sobreviver por vários meses inclusive em produtos com elevados teores de gordura e proteína. Em produtos lipídicos as salmonelas permanecem em glóbulos de gordura, ficando protegidas da ação das enzimas digestivas e à acidez estomacal. Outro dado é que a carne defumada pode apresentar a bactéria por meses (FORSYTHE, 2002; BRASIL, 2011).

Em questão de inibição da bactéria, o ácido acético e propiônico possuem maior capacidade de conter a bactéria do que ácidos lácticos e cítricos. De maneira geral se observa que são relativamente resistentes ao congelamento, dessecação, acidez, defumação e salmoura. (FORSYTHE, 2002; BRASIL, 2011).

Essa bactéria encontra dificuldades também em se desenvolver na clara do ovo de forma horizontal (por migração através da casca), devido a presença de proteínas como lisozima, avidina, ovoflavoproteína, ovotransferrina. Além do pH ser de 9,0 e o nível de ferro ser baixo, dificultando a proliferação bacteriana, por isso os dados estatísticos sobre presença da *Salmonella* em ovos geralmente é baixo, porém, nada impede a multiplicação desses microrganismos caso o ovo esteja em mau acondicionamento (TÉO & OLIVEIRA, 2005).

Para eliminação da bactéria é ideal que o alimento atinja 72°C, pois ela é sensível a temperaturas superiores a 70°C (FDA, 2015). Em alguns casos cozimento até 63°C pode eliminá-la, porém muitas vezes os alimentos não atingem essa temperatura, pois não são cozidos por tempo suficiente (INGRAHAN & INGRAHAN, 2011).

Em receitas aonde há o uso de ovos crus, ou semi cozidos, o ideal é fazer uso de ovos que passaram por mecanismo de pasteurização, o que os tornam isentos de salmonelas e diversos outros agentes bacterianos. Além disso, é recomendado que ovos e alimentos cozidos não fiquem por mais de 2 horas sem refrigeração ou aquecimento. O reaquecimento antes de servir os alimentos a uma temperatura de 72°C, pelo menos, auxilia na prevenção desse tipo de intoxicação alimentar (FDA, 2015).

Outro método que pode ser utilizado a nível industrial é a pasteurização à frio por ação ionizante, esse método pode ser substituído pela pasteurização comum, inclusive alguns países da Europa já fazem o seu uso (RICARDO et al., 2014). O ovo cru estatisticamente apresenta uma baixa quantidade de microrganismos, e após tratamento térmico a 60°C por 3,5 minutos ou 68°C por 2,5 minutos, a redução dos microrganismos é bem acentuada. Temperaturas e tempo para correta



pasteurização do ovo estão dispostos no anexo da portaria nº 1, de 21 de fevereiro de 1990 (Quadro 3) (SILVA, 2015; BRASIL 1990).

Quadro 3. Requisitos tempo/temperatura para pasteurização

Produtos Líquidos	Requisitos Mínimos de Temperatura °C	Requisitos Mínimos de tempo Minutos
Clara de ovo (sem utilização de produtos químicos)	56,7	3,5
	55,5	6,0
Ovo integral	60,0	3,5
Misturas c/ ovo integral (com menos de 2% de ingredientes que não sejam ovos)	62,0	3,5
	61,0	6,2
Ovo integral fortificado e misturas (24 -38% de sólidos de ovo, 2-12% de ingredientes que não sejam ovos)	63,5	3,5
Ovo Integral salgado (c/ 2% mais de sal adicionado)	61,0	3,5
Ovo Integral doce (2- 12% de açúcar adicionado)	61,0	3,5
Gema Pura	61,0	3,5
	60,0	6,2
Gema Doce (2 - 12% de açúcar adicionado)	63,5	3,5
	62,0	6,2
Gema Salgada (2 - 12% de adicionado)	63,5	3,5
	62,0	6,2

Fonte: BRASIL (1990)

## 2.2.4 Resistência à antimicrobianos

A *Salmonella* não é uma bactéria de alta resistência aos fatores ambientais como foi visto, porém a resistência dos microrganismos aos antimicrobianos tem sido muito relatada por instituições internacionais como a OMS, OIE inclusive no Codex Alimentarius, com dados crescentes da resistência desses agentes aos antibióticos (BRASIL, 2011).

Em países emergentes no sudeste da Ásia já foi constatado 50% de resistência a cloranfenicol e ampicilina pela *S. Typhi*, sendo que em quadros diarreicos não é indicado o uso de antimicrobianos, exceto se o quadro for grave. O ideal é analisar perfil de sensibilidade do agente para que uma dose eficaz seja feita, evitando desenvolvimento de resistência. Em meados de 1970 cerca de 17% das *Salmonella* spp. apresentavam resistência à antimicrobianos, em meados 1988 esse percentual se elevou para 31%, surgindo então diversas cepas produtoras de  $\beta$ -lactamases (enzima que causa resistência aos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos) (BRASIL, 2011).

O aumento expressivo da ocorrência de amostras multirresistentes aos antimicrobianos tem sido notória e preocupante. Em países desenvolvidos, esta ocorrência tem sido particularmente associada à utilização de doses terapêuticas e subterapêuticas de antibióticos em animais, ou para promoção do crescimento dos animais de produção (aditivos de rações) (FERREIRA & CAMPOS, 2008). Percebeu-se que mais de um quarto das cepas isoladas em pacientes em hospitais apresentaram

resistência à dois ou até mais agentes antimicrobianos, acredita-se que o uso de aditivos antimicrobianos em ração seja o principal fator (INGRAHAN & INGAHAN, 2011). Já nos países em desenvolvimento, a causa da resistência é mais relacionada ao uso de antimicrobianos na medicina humana, tanto nos hospitais como na própria comunidade (FERREIRA & CAMPOS, 2008).

Um estudo de Moraes et al. (2014) feito em diversas cepas de *Salmonellas* spp. isoladas demonstrou que a resistência às sulfonamidas foi de 73,6% (39/53), amoxicilina, 18,9% (10/53), trimetoprim-sulfametoxasole e tetraciclina, 13,2% (7/53), e 5,7% (3/53) para ampicilina e enrofloxacina. Os mais comumente utilizados em criações avícolas na região foram os que mais apresentaram resistência. A *Salmonella enterica* sorovar Enteritidis e *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium são as principais causadoras de toxinfecções em humanos e apresentaram boa resistência às sulfonamidas.

Um estudo extenso realizado pela Anvisa realizado em 13 estados e Distrito Federal determinou que a bactéria com a maior resistência é a *S. Enteritidis* com cerca de 91,9% dos seus membros multirresistentes (ou seja, resistentes no mínimo à 3 classes de antibióticos). De maneira particular os resultados em relação às várias cepas isoladas foram: estreptomicina (89,3%), sulfonamida (72,4%), florfenicol (59,2%), ampicilina (44,8%), ácido nalidixico (44,0%), ceftiofur (22,8%), aztreonam (20,4%), enrofloxacina (18,4%), cefoxitina (17,3%) e cefalotina (12,4%), para CHL observou-se apenas grau intermediário de sensibilidade em 8 (3,2%) cepas. (BRASIL, 2008).

## 2.3 EPIDEMIOLOGIA

### 2.3.1 Prevalência

Desde 2010, a OMS vem registrando as doenças entéricas transmitidas por produtos alimentícios. Estima-se pelo menos 582 milhões de casos, sendo a maior parte ocasionada pela *Salmonella* Typhi, muitas vezes carregada pela água (ABRASCO, 2015). A FDA (2015) estima que 142 mil doenças são causadas anualmente pelo consumo de ovos contaminados, sendo um problema que envolve setores de produção, manuseio inadequado e ausência de cuidados do próprio consumidor. Na Europa, segundo a European Food Safety Authority (2015), a cada ano ocorrem pelo menos 100.000 casos de salmonelose. As perdas econômicas giram em torno de 3 bilhões de Euros por ano.

Cerca de 40 mil casos são notificados anualmente em departamentos de saúde dos Estados Unidos, o fato é que muitos casos ocorrem sem serem notificados, caracterizando-se como dados abaixo da realidade. A maioria das pessoas adquirem essa doença em algum momento de sua vida, poucas vão a óbito, porém muitos dias de trabalhos são prejudicados e os prejuízos se acumulam (INGRAHAN & INGRAHAN, 2011).

Aproximadamente 45 mil casos de salmonelas não tifoïdes (advindas de alimentos contaminados) foram descritas nos Estados Unidos em 2005. Porém existe estimativa de mais de 1,4 milhão de infecções e 600 mortes por ano. Foram contabilizadas cerca de 168.000 consultas médicas e prejuízo de 3 bilhões de dólares (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2009; PALANDRI; PESSOA, 2009).

A disseminação da *Salmonella* é ampla, na verdade a bactéria é cosmopolita e está presente nos animais. Muitos sorovares infectam criações domésticas. Carne, leite não pasteurizado e até ovos classe A podem carrear o agente. Dos 4 milhões de frangos consumidos nos Estados Unidos cerca de 1,4 milhão estão contaminados com a *Salmonella* (INGRAHAN & INGRAHAN, 2011). No trabalho de Guerra (2019), com a captura de espécimes de moscas e a identificação das bactérias a partir de testes bioquímicos, conclui-se que há uma grande quantidade de microrganismos carreados por esses insetos, incluindo bactérias causadoras de infecções entéricas como *Salmonella* spp.

A incidência é maior em crianças com menos de 5 anos de idade e em adultos acima de 60 anos, e são mais comumente afetados durante os meses de verão e outono, quando os alimentos contaminados são consumidos em eventos sociais ao ar livre. As fontes mais comuns de infecções humanas são aves domésticas, ovos, laticínios e alimentos preparados em superfícies contaminadas (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2009).

Já no Brasil entre o período entre 2007 e 2014 a Secretaria de Vigilância em Saúde notificou 450 surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA), causada pelo Gênero *Salmonella* sp. totalizando 13.165 doentes (BRASIL, 2015).

Com relação aos fagotipos mais comuns, a ANVISA, fez uma pesquisa e identificou os fagotipos mais presentes nos plantéis de aves sendo: S. Enteritidis dos fagotipos PT4 em 88 (74,6 %) das 118 cepas analisadas, PT1 (19,5%), PT5 (4,2%) e PT7a (1,7%), portanto evidenciou-se uma maior presença dos tipos PT4 e PT1 em todas as regiões e período de análise (Alagoas, Amapá, Ceará, Distrito Federal, Espírito Santo, Goiás, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, Paraná, Rio de Janeiro, Rio Grande do Norte, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e São Paulo: Capital e Ribeirão Preto) (BRASIL, 2008).

Com relação a S. Typhimurium, identificou-se dois fagotipos, destacando-se o PT193 em 14 (82,3%) dos 17 isolados e o PT208 em 3 (17,6%). Essa elevada frequência desses dois fagotipos (PT4 e PT193) acompanha o nível mundial de ocorrência e mostra a necessidade de estudos para avaliar a sua real significância no meio avícola e seus possíveis prejuízos (BRASIL, 2008).

### 2.3.2 Fontes de infecção e transmissão

A produção em larga escala acaba aumentando os riscos no manuseio, transporte, condições inadequadas de estocagem e ausência de cuidados sanitários favorecendo a disseminação do agente, por isso a crescente disseminação da doença (BRASIL, 2011). Nos últimos anos foi observado um aumento do seu isolamento, tanto em materiais biológicos de origem humana como de produtos aviários, em vários países do mundo, inclusive no Brasil (FERREIRA & CAMPOS, 2008).

A *Salmonella* tem como principal reservatório o trato gastrointestinal de animais de sangue quente e frio. Fontes de infecção incluem água, solo contaminado, vegetação, componentes de ração de animais (tais como farinha de carne e osso, peixe). Derivados de leite, ovos e carne, também podem alojar a bactéria. Répteis, geralmente são assintomáticos e podem portar diversos sorotipos (HIRSH, 2012).

Os sorotipos *Salmonella* Typhi e *S. Paratyphi* são altamente adaptadas ao homem e não causam doença em hospedeiros não humanos. Outros sorotipos de *Salmonella* como a *S. Choleraesuis* são adaptadas aos animais, porém podem causar doença grave em humanos (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2009).

O homem aparenta ter susceptibilidade a todos os sorotipos, as principais fontes de infecção são os próprios animais e seus subprodutos. Aves domésticas e seus produtos como ovos e derivados são as principais fontes de *Salmonella*. A *Salmonella* Enteritidis, fago do tipo 4, é especialmente adaptada para a transmissão via ovos. (HIRSH, 2012).

De maneira geral as salmonelas estão disseminadas geograficamente e zologicamente. Existem bactérias hospedeiro específicas (*S. Dublin* – bovinos, *S. Typhisuis* – suínos, *S. Pullorum*, aves domésticas), já outras como a *S. Typhimurium*, *S. Anatum*, *S. Newport* são inespecíficas e acometem diversas espécies, inclusive animais disseminadores como roedores e aves, podendo atingir o meio humano (HIRSH, 2012).

A *S. enterica*, subespécie I, é capaz de causar infecções em vários animais de sangue quente, e mesmo com estreita relação genética, elas apresentam variação quanto a especificidade a diferentes hospedeiros. Alguns sorotipos são capazes de infectar uma gama maior de espécies enquanto alguns são mais específicos. A *S. Typhi* é restrita ao ser humano, já a *S. Typhimurium* acomete várias espécies como bovinos, homem e camundongos (FERREIRA & CAMPOS, 2008).

A principal forma de eliminação da *Salmonella*, pelos animais, é através das fezes. O tempo de sobrevivência desses microorganismos no ambiente é de 28 meses em fezes secas de aves, 30 meses em estrume bovino, 280 dias em solo de cultivo e até 120 no pasto. Há a possibilidade dos efluentes de esgoto carrear o agente, logo, a contaminação de hortaliças pela água é possível (BRASIL, 2011).

Uma pesquisa realizada no estado de Goiás demonstrou que 4,7% das amostras de pintos de 1 dia mostraram-se infectados pela *Salmonella*. Contaminação pode ser pelo contato direto com as fezes ou pelas matrizes. 12,5% dos besouros da cama de frango também estavam infectados pela bactéria, sendo, portanto, um risco. Esses insetos podem contaminar rações e outros galpões. Nesse estudo a *Salmonella enterica* sorovar Schwarzengrund apresentou prevalência de 28,3% seguida da *Salmonella enterica* serovar Enteritidis em 15,2% (MORAES et al. 2014).

Os animais muitas vezes não apresentam sintomatologia, carregando o agente como portadores assintomáticos, sendo o ponto central da epidemiologia, portanto esses animais são fontes de infecção e esse fato deve ser visto com mais atenção quando se busca controlar os casos de salmonelose (BRASIL, 2011). Os animais eliminam o agente por longos períodos como assintomáticos ou portadores convalescentes, ajudando a distribuir e disseminar de forma incontrolada a *Salmonella* spp. (HIRSH, 2012).

Apenas a presença da *Salmonella* spp. em produtos alimentícios poderiam torná-los impróprios para o consumo, mas é importante que se saiba que essa bactéria está presente na microbiota intestinal das aves, logo a sua “ausência” deve ser pregada com cautela (MEAD et al, 2010). Portanto a presença desse agente em alimentos crus como carne de frango e ovos não é incomum, por isso é importante o cozimento dos alimentos para destruir o microrganismo evitando infecções alimentares (CDC, 2007).

A transmissão de pessoa para pessoa também pode ocorrer, particularmente em hospitais, ou, ainda, através do contato com animais infectados, principalmente entre veterinários e trabalhadores de fazendas e granjas (FERREIRA & CAMPOS, 2008).

Outro problema da detecção da *Salmonella* nos produtos de origem animal é a dificuldade de técnicas para detecção da enfermidade no processo de inspeção (HOLT, 2006). A questão da contaminação dos ovos pode ser de forma externa, pelo contato com as fezes, ou internamente, quando a bactéria penetra no ovo através sistema reprodutivo da fêmea (TÉO & OLIVEIRA, 2005). Ocorre principalmente pela *S. Enteritidis*, *S. Heidelberg*, *S. Agona*, *S. Virchow* (HOLT, 2006).

A contaminação do interior do ovo pode ocorrer também por fatores externos como a partir das microfissuras da casca que em contato com as fezes contaminadas pela *Salmonella* penetram no ovo. Podendo penetrar também no próprio trato reprodutivo contaminado de forma ascendente via cloaca. Essa bactéria consegue se multiplicar mais expressivamente ao migrar do albúmen para a gema via corrente sanguínea e trato reprodutivo e membrana da casca (GANTOIS et al. 2009).

Os ovos podem ser contaminados a partir de pequenas fissuras na casca ou mesmo por infecção transovariana, ou seja, a partir de um ovário ou oviduto infectado diretamente para a gema,

antes da formação da casca. Além disso, de 18°C a 30°C a multiplicação da bactéria no seu interior é favorecida. Este modo de transmissão é de difícil controle, pois as aves geralmente apresentam infecções assintomáticas. Nestes casos a *S. Enteritidis* tem sido o sorovar mais comum (FERREIRA & CAMPOS, 2008).

#### 2.4 PATOGÊNESE E FATORES DE VIRULÊNCIA

As salmonelas podem ser divididas em 2 ou até 3 grupos quanto à patogenicidade. O primeiro grupo é representado pela *Salmonella* Typhimurium, é um conjunto de sorovares que pertencem em grande parte pelos grupos B,C e E do esquema Kaffman-White. O segundo grupo possui como representante maior a *Salmonella* Typhi e talvez se admita incluir os sorotipos responsáveis pelas febres paratifóides (*S. Paratyphi* A, *S. Paratyphi* B e *S. Paratyphi* C), sendo esse grupo menos estudado, e o terceiro grupo consistiria pelas *S. Dublin*, *S. Choleraesuis*, além de outras variantes da *S. Typhimurium* causadoras de gastroenterites no homem (FERREIRA & CAMPOS, 2008).

O mecanismo da patogênese é simples, ele é dado pela ingestão da bactéria na sua dose infectante aonde o microrganismo adere aos enterócitos, essa adesão é feita pela pili (ou fímbrias). Em seguida esses microrganismo, penetram nessas células intestinais e se multiplicam, invadindo a mucosa intestinal e se disseminando pela submucosa, isso resulta em uma inflamação intestinal aguda. A consequência principal é um quadro de diarreia moderado, mas existem casos mais graves que podem ocorrer diarreias severas, tenesmo e presença de sangue, gerando até septicemia (BRASIL, 2012). Segundo Gomes (2015) a patogenicidade pode ser dividida em 3 fases:

**Fase 1:** Bactéria ingerida coloniza o intestino (GOMES, 2015). Essa é a fase estacionária, aparentemente a mais apropriada para iniciar a doença, tendo em vista que nessa fase, a RNA polimerase (que contém o fator sigma alternativo, RpoS) já inicia a transcrição de genes que irão criar a tolerância à acidez do estômago, além de ser um regulador positivo para genes de plasmídeos Spv. (HIRSH, 2012). A RNA-polimerase contém RpoS ela transcreve genes que fazem a bactéria sobreviver a pH abaixo de 5,0 além de regular genes encontrados em plasmídeos Spv. (HIRSH, 2012).

A RNA polimerase possui o fator sigma de fase estacionária, RpoS, que regula alguns desses genes (genes Spv) que são transportados por tais plasmídeos, sendo necessários para o crescimento intracelular. Outros genes nesses plasmídeos podem estar envolvidos com aderência e invasão da célula alvo e são responsáveis também por resistência sérica (HIRSH, 2012).

A colonização geralmente ocorre na parte mais distal do intestino delgado e cólon. Cepas com fímbrias aderem melhor à mucosa do íleo do que cepas sem fímbrias. Outro fator que contribui para aumento da colonização de salmonela no trato intestinal é a diminuição da motilidade, que acaba

comprometendo a expulsão de agentes agressivos à mucosa e a terapia antimicrobiana, que compromete a microbiota intestinal (bactérias fusiformes), estas, produzem ácidos orgânicos voláteis que inibem o crescimento das salmonelas (GOMES, 2015).

**Fase 2:** Essa fase ocorre a invasão do epitélio intestinal (extremidade das vilosidades superiores, na região do íleo e cólon). Ao penetrar a célula o agente não causa a morte dela e nem mudanças morfológicas. Lá eles se multiplicam e infectam células adjacentes (GOMES, 2015).

As células alvo preferencial são as células epiteliais do segmento distal do intestino delgado e do segmento proximal do intestino grosso além das células M (estas são as primeiras a serem acometidas) (HIRSH, 2012). Durante um estudo encontraram 3 adesinas responsáveis pela interação salmonela e a célula alvo (Célula M, célula epitelial intestinal). Essas adesinas são a do tipo I, fímbria codificada por plasmídeo e a fímbria polar longa, elas são codificadas pelos genes *fim*, *pef* e *lpf*, respectivamente. Foi demonstrado que a adesina codificada pela *lpf* possui grande afinidade por células M, elas são responsáveis pela adesão de várias linhagens celulares em mamíferos (HIRSH, 2012).

As salmonelas possuem diversas fímbrias, que estão associadas à adesão de diferentes tipos de células epiteliais e até possivelmente à matriz extracelular (fibronectina) (FERREIRA & CAMPOS, 2008).

As fímbrias mais frequentes são: fímbria do tipo I (codificada pelos genes *fim*), fímbria fina agregativa ou curli (*Aggregative fimbrial*; sendo esta, codificada pelo gene *agf*), fímbria plasmideal (*plasmid-encoded fimbriae*; codificada pelos genes *pef*), fímbria longa polar (*long polar fimbriae*, codificada pelo gene *lpf*). Essas fímbrias podem estar contidas em todos os sorotipos, mas de forma geral, a distribuição é variada, dificultando encontrar o papel que desempenham no processo de virulência (FERREIRA & CAMPOS, 2008).

A especificidade da fímbria do tipo I não foi desvendada. Já a fímbria plasmideal tem a função de reconhecer as microvilosidades dos enterócitos. Essas fímbrias possuem esse nome devido ao gene *pef* serem encontrados em um plasmídeo de virulência, denominado pSLT. A fímbria longa polar é capaz de mediar a ligação às placas de Peyer. A fímbria fina agregativa reconhece as vilosidades dos enterócitos e também são responsáveis pela auto agregação bacteriana. A *Salmonella* Paratyphi possui uma fímbria do tipo IV como destaque, esta que parece utilizar o receptor CFTR (*cystic fibrosis transmembrane conductance regulation*) como sítio de ligação (FERREIRA & CAMPOS, 2008).

A adesão é o primeiro passo para a doença, mediado por adesinas codificadas por um ou mais genes, anteriormente descritos: *fim*, *pef*, *lpf*, podem haver outros genes ainda não determinados (HIRSH, 2012). A patogênese ocorre a partir da translocação de proteínas da bactéria para dentro da

célula eucariótica, fazendo-a desempenhar diferentes funções. Maior parte dessas proteínas acabam sendo injetadas no citosol celular do hospedeiro por dois meios de secreção do tipo III. O primeiro, faz um rearranjo do citoesqueleto (composto actina) fazendo formar ondulações (*ruffles*) na membrana celular eucariótica, após essas ondulações surgirem ocorre um engolfamento da salmonela para o interior da célula (FERREIRA & CAMPOS, 2008).

No cromossomo da salmonela existe a “ilha de patogenicidade” lá se encontram o gene de “invasiva”, eles são responsáveis por codificar proteínas envolvidas na entrada da bactéria nas células alvo. Isso vai ocorrer a partir da indução para a desorganização do citoesqueleto de actina e a formação de ondulações na membrana celular e posterior ativação da pequena proteína que liga GTP à CDC42. A salmonela torna-se aprisionada nessas ondulações e é interiorizada (HIRSH, 2012).

Após a adesão, ocorre, portanto, a interiorização da salmonela por indução de ondulações na membrana das células alvo. O responsável por ativar esse mecanismo é o produto do gene *sip*. Essa formação de ondulações vai resultar a ativação da fosfolipase C, como consequência o aumento do cálcio intracelular, a ativação da proteína cinase C e a fosforilação das proteínas contida nos canais de íons cloreto e proteínas de transporte iônico que estão associadas à membrana envolvidas na absorção de NaCl. Esses eventos resultam em diarreia. A célula-alvo é irreversivelmente danificada por esta interação, sofrendo apoptose (HIRSH, 2012).

As toxinas liberadas pela salmonela atingem células alvo específicas (geralmente células do epitélio intestinal). A primeira, toxina LT-símile, desregula a síntese de nucleotídeos cíclicos por ribosilação, outra cessa a síntese proteica e uma terceira possui atividade de fosfolipase A (PLA). Existe a enterotoxina Stn (*Salmonella*-enterotoxina), que é um peptídeo biologicamente ativo, não é composto de subunidades como as toxina LT e as toxinas colérica, mesmo que esta última seja neutralizada por antitoxinas (HIRSH, 2012).

A doença resulta de células alvo vagas em relação ao número de salmonelas. A disponibilidade de células alvo depende do estado da microbiota intestinal, caso a flora esteja suprimida, por estresse ou antibiótico, a dose infectante não precisa ser muito alta (HIRSH, 2012).

Após a invasão, as salmonelas se encontram no tecido linfoide da submucosa. Ocorrendo o influxo de leucócitos neutrofílicos polimorfonucleares (PMN) e macrófagos devido à resposta inflamatória nesses locais, esse influxo pode ocasionar neutropenia periférica transitória (HIRSH, 2012). Ocorre fagocitose e elas são sequestradas para linfonodos regionais (GOMES, 2015).

O contato de macrófagos teciduais com a bactéria ocorre nessa fase. Após esse contato proteína SipB é secretada, o que induz apoptose celular, sendo essa etapa importante para a sobrevivência da bactéria, pois o recrutamento adicional de fagócitos facilitará a disseminação do agente. O segundo tipo de secreção tipo III é a secreção de proteínas efetoras que permitirão a bactéria



sobreviver e multiplicar nos macrófagos. Além de secretarem via esse sistema as chaperoninas, proteínas que fazem parte do translocon e proteínas reguladoras (FERREIRA & CAMPOS, 2008).

Macrófagos dentro dos nódulos acabam também sendo envolvidos. Os PMN são altamente eficientes, e fagocitam e destroem as salmonelas, os macrófagos possuem essa capacidade, porém em menor grau. Dependendo do estado imunológico do hospedeiro e do sorovar infectante, o processo infeccioso é interrompido nesta fase (HIRSH, 2012).

No interior do fagossoma de células fagocíticas, grande parte em macrófagos, a salmonela vai se disseminar e multiplicar. Nem sempre as cepas mais invasivas são as mais capazes de resistir ao conteúdo lisossômico. Algumas se adaptam a fagossomas que acabam não se fundindo com lisossomos (HIRSH, 2012).

A *Salmonella* sobrevive dentro de macrófagos, um dos responsáveis é o regulador transcricional, *SlyA* (de *salmolysin* – salmolisina), proporcionando, portanto, proteção aos produtos tóxicos gerados pelas vias dependentes de oxigênio. As defensinas encontradas nos grânulos dos lisossomos, que protegem o hospedeiro, não possuem eficiência devido à ação dos do promotor *phoP/phoQ* produzido pela bactéria (HIRSH, 2012).

A Multiplicação é controlada basicamente por dois grandes de genes (ilhas de patogenicidade, PAI) no cromossomo bacteriano. A ilha de patogenicidade I (PAI I) vai codificar as proteínas de invasão secretadas por *Salmonella* (Ssps) e um sistema de secreção tipo III, que injeta as proteínas na célula hospedeira. A ilha de patogenicidade II (PAI II) contém os genes que irão permitir a bactéria escapar da resposta imunológica do hospedeiro e um outro sistema de secreção tipo III cessa essa função (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2009).

Cepas que produzem esta forma da doença conseguem escapar da destruição do hospedeiro e vão se multiplicam dentro de macrófagos no baço, fígado e intravascularmente. Durante a disseminação, algumas salmonelas, estão fora do ambiente intracelular (por acaso), portanto, são sujeitas a formação de complexos que irão atacar a sua membrana de superfície. A ocorrência deste fato é inibida por, pelo menos, dois mecanismos: um produto advindo do plasmídeo Spv e o comprimento das unidades de repetição O do LPS (existe uma correlação direta entre o comprimento das unidades de repetição O e virulência) (HIRSH, 2012).

O Rck (*resistance to complement killing*) é uma proteína da membrana externa, com 19kDa, que acaba interferindo na formação do MAC (*membrane attack complex*), constituído pelas proteínas C5-C9, que faz com que a *Salmonella* resista à ação do sistema complemento (FERREIRA & CAMPOS, 2008).

Os LPS podem ser também considerados como fatores de virulência, pois aparentam proteger a bactéria da ação de defensinas letais e do complemento. As longas cadeias do antígeno O

acabam impedindo que a membrana interna da bactéria seja alcançada pelo MAC (FERREIRA & CAMPOS, 2008).

**Fase 3:** Após ocorrer a resposta inflamatória na mucosa intestinal ocorre a liberação de substâncias vasoativas que aumentam a permeabilidade dos vasos e a exsoração de fluidos como água, bicarbonatos e cloretos no lúmen intestinal e uma invasão de neutrófilos das vilosidades, causando inflamação local, esses neutrófilos podem ser usado como diagnostico presuntivo nas fezes (GOMES, 2015). Como na maioria das respostas inflamatórias, a salmonelose tende a se restringir no trato gastrointestinal, acaba se envolvendo também na liberação de protoglandinas, estimulando o cAMP e exsoração de fluidos (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2009).

A ativação da proteína cinase C, proteína de efeitos enterotóxicos (Stn, a citotoxina ou proteína com atividade PLA) acabam causando diarreia secundária devido à resposta inflamatória. Os sinais são desconforto abdominal e diarreia com evidência de morte celular (sangue, debris celulares e células inflamatórias) (HIRSH, 2012).

O Stn faz com que o AMPc aumente desencadeando o quadro diarreico. O fluxo de líquido ocorre devido a proteína com atividade PLA, ela possui ação no fluxo do ácido araquidônico. As citotoxinas causam a morte das suas células alvo por interrupção da síntese proteica. A posterior má absorção e o próprio quadro diarreico poderiam levar também a morte das células. Em geral não há dados concretos sobre o papel dessas toxinas no quadro diarreico (HIRSH, 2012).

Além da sintomatologia gastrointestinal comum, a septicemia pode vir a ocorrer caso a salmonela possua propriedades que permitam sua disseminação, (plamídeo Spv, que vai codificar produtos promotores de crescimento intracelular e resistência sérica; sistema PhoQ/PhoP, que permite a resistência à defensinas e a SlyA, que induz a resistência a subprodutos dependentes de oxigênio). Caso o hospedeiro esteja com sistema imunológico debilitado a chance da disseminação é maior (HIRSH, 2012).

Além da disseminação da bactéria, ocorre a liberação de endotoxinas da parede da célula bacteriana, a atividade endotóxica vai se relacionar com o componente do lipídio A do lipopolissacarídeo (LPS) da parede celular, dentre os sinais clínicos é possível observar febre, hemorragias por consumo dos fatores de coagulação, leucopenia seguida de leucocitose, diminuição dos níveis de glicogênio, hipoglicemia, hipotensão e choque (GOMES, 2015).

## 2.5 SINTOMATOLOGIA

O quadro clínico dependerá da dose infectante, resistência do hospedeiro, sorovar específico e a própria colonização efetiva (HIRSH, 2012). A dose infectante para se contrair uma

salmonelose varia de  $10^6$  a  $10^8$  células. Em pacientes imunossuprimidos esses valores são bem mais baixos, atingindo valores menores que  $10^3$  de células (FONSECA et al., 2006).

Sua virulência depende da motilidade, habilidade de penetração, replicação, resistência ao sistema imunológico do hospedeiro, capacidade de produzir toxinas. Na *S. Gallinarum*, *S. Choleraesuis* e *S. Dublin* a virulência é mediada pelo plasmídeo que contém os genes *spvR ABCD*. A manifestação clínica inclui quadros entéricos agudos ou crônicos, osteomielite, artrite, hepatite e até septicemia (sendo mais comum na *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium*). Em pacientes imunodeprimidos a doença é assintomática ou apresentar uma diarreia autolimitada em 95% das vezes (BRASIL, 2011).

O principal sintoma da ingestão de ovos contaminados é a infecção aguda da mucosa intestinal, que é causada pelas salmonelas não-tifoidais, gerando uma infiltração e transmigração epitelial de neutrófilos, exsudação de líquidos serosos e consequente diarreia. Em adultos é conhecida como intoxicação alimentar, nome que enfatiza a sua causa primária e a fonte de infecção, alimentos, como por exemplo carnes mal passadas, frango e ovos. De maneira geral a infecção humana por salmonela não-tifoides é limitada ao intestino, apresentando uma inflamação aguda, seguida de uma diarreia inflamatória autolimitante. Maior parte dos estudos experimentais é feito em bezerros, já que camundongos não desenvolvem quadro de gastroenterite (FERREIRA & CAMPOS, 2008).

A multiplicação da bactéria acaba resultando em endotoxemia, o que contribui para ocasionar grande parte dos sinais clínicos da doença (HIRSH, 2012). O período de incubação é de 48h em média, no homem causa diversos sintomas como: dores de cabeça, fezes aquosas ou amolecidas, pode ocorrer fezes consistentes apresentando ou não sangue e muco, febre ( $38^{\circ}\text{C}$  a  $39^{\circ}\text{C}$ ) na metade dos casos (desaparecendo em 2 dias), calafrios, cólicas abdominais leves ou intensas, caso invada os linfonodos mesentéricos pode assemelhar a apendicite, o quadro diarreico pode regredir em 3 a 4 dias, a bactéria pode estar presente nas fezes durante 4 a 5 semanas (FERREIRA & CAMPOS, 2008; BRASIL, 2011). Os sintomas são mais comuns ocorrem de 12 a 72 horas após ingestão do alimento (FDA, 2015).

O choque hipovolêmico, megacólon e perfuração intestinal, são raros, mas podem estar associados à diarreia, porém a desidratação e o desequilíbrio de eletrólitos possuem uma incidência maior. Bacteremia após a enterocolite é mais comum em pacientes imunodeprimidos (1% a 5%). Idosos e neonatos são os pacientes que desenvolvem as doenças mais graves, nos recém nascidos os quadros são prolongados e a taxa de letalidade é alta (FERREIRA & CAMPOS, 2008). Pacientes adultos saudáveis se recuperam sem tratamento em poucos dias (INGRAHAN & INGRAHAN, 2011).

Tratamentos com antimicrobianos não é recomendado, pois torna o período de excreção da bactéria maior, sendo recomendados apenas quando há uma disseminação do agente. Somente na *Salmonella Typhi* é que se aconselha o uso de antimicrobianos (FERREIRA & CAMPOS, 2008).

## 2.6 DETECÇÃO DE SALMONELLA EM AMOSTRAS BIOLÓGICAS

### 2.6.1 Cultivo Bacteriológico

Segundo a Instrução Normativa nº 62, de 26 de Agosto de 2003 no anexo I em seu capítulo XV, o cultivo bacteriológico é considerado o método oficial analítico para pesquisa de *Salmonella* spp. Esse método se divide em 5 etapas (BRASIL, 2003a).

A primeira etapa é o pré-enriquecimento que visa recuperar células danificadas, as salmonelas em alimentos geralmente se apresentam em pequeno número, isso advém dos efeitos resultantes do processamento e armazenamento. Portanto é necessária uma etapa prévia, o pré-enriquecimento em meios não seletivos para sua recuperação. Os danos às salmonelas são resultados das perdas ou alterações de suas funções celulares, tornando-as susceptíveis aos agentes seletivos, refletindo por exemplo na incapacidade de formar colônias em meios mínimos salinos, entretanto, é possível sua visualização em meios complexos (BRASIL, 2011).

Microrganismos que venham a sofrer danos estruturais não conseguem se proliferar ou sobreviver nos meios com agentes seletivos (lauril sulfato, concentrações crescentes de sais biliares, desoxicolato, antibióticos e detergentes). Portanto o dano só se tornará reversível se a célula for exposta às condições que favorecerão seu crescimento (meio não seletivo e rico em nutrientes) (BRASIL, 2011).

Portanto essa recuperação celular é feita, incubam-se as amostras em condições não seletivas, pelo menos por 18 horas. Os principais meios utilizados são o Caldo Lactosado (CL) e a Água Peptonada a 1,0% Tamponada (BPW) (SILVA, N.; AMSTALDEN, 2007). O caldo lactosado pode ser inconveniente em alguns casos no pré-enriquecimento; como em meios que possuem muitos microorganismos fermentadores de lactose, pois eles acabam reduzindo o pH e limitando, portanto, o crescimento da *Salmonella* spp. Porém outros meios podem ser utilizados, como tripton de soja e caldo nutriente (BRASIL, 2011).

Posteriormente é feito o enriquecimento em caldo seletivo, que promove o desenvolvimento preferencial da bactéria e inibição da multiplicação de outras bactérias, isso é feito na amostra pré-enriquecida, incubando por 18 a 24 horas (SILVA, N.; AMSTALDEN, 2007). Os meios de enriquecimento devem interagir com a temperatura e tempo de incubação, isso é fundamental para um melhor isolamento bacteriano. A seletividade é melhorada pela incubação entre 41°C e 43°C. Diferentes meios vêm sendo sugeridos para essa etapa, sendo a bile, o tetracionato, o

selenito e corantes como o verde brilhante e o verde malaquita os mais utilizados (BRASIL, 2011). É recomendável a utilização de pelo menos 2 meios de enriquecimento, pois a resistência das salmonelas varia de cepa para cepa. A recomendação é a utilização dos meios: Caldo Rappaport-Vassiliadis Modificado (RV) ou Rappaport-Vassiliadis soja (RVS). Quanto ao Caldo Tetrionato, existem exceções, portanto é necessário observar bem as informações do fabricante, definições e descrição do procedimento (SILVA, N.; AMSTALDEN, 2007).

A terceira etapa é o isolamento e seleção (plaqueamento seletivo diferencial). O plaqueamento seletivo diferencial promove crescimento das colônias da salmonela (LOGUERCIO et al., 2002). Utiliza-se pelo menos 2 meios sólidos, o Ágar Verde Brilhante Vermelho de Fenol Lactose Sacarose (BPLS), este obrigatório, e algum outro (BRASIL, 2003a). O objetivo dessa etapa é o desenvolvimento preferencial de colônias de *Salmonella* spp., com características típicas que vai distingui-las dos competidores, para depois ser feita a confirmação sorológica e bioquímica (SILVA, N.; AMSTALDEN, 2007).

Existem vários meios disponíveis para utilização nessa etapa. Sendo os meios mais utilizados os que diferem as *Salmonella* como não fermentadoras de lactose e as que produzem ácido sulfídrico, são ele: Ágar entérico de Hektoen (HE), Ágar Xilose Lisina Tergitol 4 (XLT4) e o Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD) (SILVA, N.; AMSTALDEN, 2007). Ágar Verde Brilhante, Desoxicolato, o Ágar *Salmonella-Shigella* e o Ágar Sulfito de Bismuto são outros exemplos utilizados nos procedimentos aprovados por diferentes órgãos que regulam o isolamento de salmonelas em alimentos (BRASIL, 2011).

Além da maioria não conseguir fermentar a lactose, existem outras circunstâncias que auxiliam o diagnóstico, como a capacidade de produção de sulfeto ou substratos como sacarose e a salicina. Como as samonelas muitas vezes não produzem em quantidades razoáveis de gás sulfídrico (as vezes é até incapaz de produzi-los), muitas vezes não ocorre a detecção em meios seletivos, sendo importante que os próximos testes não sejam baseados nessas características. Portanto outras opções são o Ágar Verde Brilhante (BG Ágar), baseado apenas na fermentação da lactose e não o ácido sulfídrico, e o Ágar Bismuto Sulfito (BS Ágar) que se relaciona na produção do ácido, mas não na lactose (BRASIL, 2011). Dando, então, uma especificidade maior quanto à colônia de *Salmonella* sob cultivo (SILVA, N.; AMSTALDEN, 2007). Como a maioria das cepas possui ácido sulfídrico, as colônias que crescem em meios contendo ferro produzirão um centro escurecido (HIRSH, 2012).

No esquema de diagnóstico das enterobactérias, esses meios seletivos indicadores, de natureza sólida, constituem como fatores fundamentais para o isolamento de diferentes membros dessa família. Diferenciando, portanto, a *Salmonella* de outras bactérias, a partir de suas características inibitórias e aspecto macroscópico das colônias (BRASIL, 2011).

Após a seleção das colônias nos meios indicadores seletivos, pode-se utilizar de meios de triagens como: Ágar TSI, Ágar dois açúcares ferro (Kligler – KIA), Ágar Lisina Ferro – LIA, meio de Costa e Vernin – CV, meio IAL (modificação do meio de Rugai e Araújo), Ágar Motilidade-Indol-Lisina – MILi, Ágar Motilidade-Indol-Ornitina – MIO e meio EPM – Escola Paulista de Medicina. Esses meios são utilizados isoladamente ou associados possibilitando a caracterização bioquímica presuntiva, indicando, portanto, os testes bioquímicos complementares necessários para a identificação (BRASIL, 2011).

A penúltima prova é a bioquímica, que verifica o perfil bioquímico que são característicos de cada cepa. Busca-se analisar as propriedades fisiológicas e metabólicas das culturas suspeitas. Os aspectos analisados são a presença do citocromo oxidase, produção de ácido sulfídrico, detecção do pirrolidonil peptidase (PYRase) (BENNETT et al., 1999), produção de urease, descaboxilação da lisina, fermentação da glicose, sacarose e lactose no meio TSI, detecção de beta-galactosidase, motilidade e produção de indol. Pode-se realizar para confirmação final provas complementares, que irão se basear na inoculação das culturas suspeitas em uma bateria miniaturizada de testes padronizados. Os microtubos irão conter substratos desidratados. Para cada teste são reidratados por adição da suspensão do microrganismo teste em diluente específico para esse fim (BRASIL, 2003a). De uma forma geral os diferentes órgãos reguladores também recomendam o uso de kits comerciais miniaturizados, que irão permitir uma análise de um número maior de provas bioquímicas (SILVA, N.; AMSTALDEN, 2007).

É possível o diagnóstico preliminar baseado apenas na morfologia colonial e nas reações bioquímicas, em diferentes meios indicadores seletivos e de triagem. Mas a identificação de membros da família Enterobacteriaceae requer a utilização de provas bioquímicas complementares. Entre as provas preliminares é possível destacar a detecção da enzima citocromo-oxidase, a redução do nitrato a nitrito, e características intrínsecas da família (BRASIL, 2011).

Existem diversas outras provas diferenciais complementares, que permitem avaliar as características metabólicas, contribuindo para a identificação posterior dos gêneros/espécies. São exemplos: fermentação de carboidratos, reação de vermelho de metila – VM, utilização de citrato, produção de acetoina – VP, indol, uréase, sulfeto de hidrogênio – H<sub>2</sub>S, descarboxilação de aminoácidos e mobilidade. (BRASIL, 2011).

O último teste que pode ser realizado é a prova de soroaglutinação, que se baseia na reação antígeno-anticorpo, com consequente aglutinação do antígeno frente ao antissoro para *Salmonella* polivalente “O” (BRASIL, 2003a). Busca a presença de antígenos “O” “H” e “Vi”, que devem conter anticorpos para os fatores mais comuns. Os testes sorológicos somáticos são os dos grupos “A” e “E”. Alguns antissoros comerciais possuem também para o antígeno Vi. Existem marcas que possuem kits

mais completos que identificam, além desses citados, os antígenos flagelares (SILVA, N.; AMSTALDEN, 2007).

O método de análise de alimentos finaliza a confirmação nessa etapa, já que a caracterização completa do sorovar é realizada somente em alguns laboratórios de referência. De maneira geral, o método tradicional de cultura é bastante sensível. Possui um limite de detecção de 1 unidade formadora de colônia para cada 25g de amostra. É um método lento e laborioso, por isso existe grande interesse em desenvolver métodos alternativos e mais rápidos que possam ser utilizados no lugar do cultivo (SILVA, N.; AMSTALDEN, 2007).

### 2.6.2 Substâncias cromogênicas

Recentemente nos meios de cultura estão sendo incorporadas substâncias cromogênicas em sua formulação. Pela sua seletividade e indicativos, permitem a diferenciação da *Salmonella* spp. de outras bactérias, pelo desenvolvimento de cores características para cada gênero/grupo bacteriano. São exemplos: Ágar Rambach, Cromocen SC, CHROMagar *Salmonella*, Colorex *Salmonella*. (BRASIL, 2011).

O Ágar Rambach vem sendo utilizado na identificação de cepas de *Samonella* em alimentos. Permite a diferenciação com membros do gênero *Proteus*, além de outras bactérias entéricas. Possui um composto cromogênico que indica a presença de  $\beta$ -galactosidase, possibilita identificar a colônia de salmonela a partir da coloração avermelhada que se forma, típica de suas colônias. A presença de fragmentos de  $\beta$ -galactosidase, característica de coliformes, é evidenciada pelo desenvolvimento de colônias azul-esverdeadas ou violetas azuladas. Já outras colônias de enterobactérias ou Gram negativas (*Proteus*, *Pseudomonas*, *Shigella*, *S. Typhi* ou *S. Paratyphi*) irão se apresentar incolores (BRASIL, 2011).

O cromocen SC é um meio para detectar, isolar, diferenciar e até realizar a contagem de *Salmonella* (exceto a *Salmonella Typhi*), coliformes totais e de outras bactérias Gram negativas. Esse meio se baseia na combinação de uma reação cromogênica para detectar a atividade  $\beta$ -galactosidase e uma reação bioquímica que degrada fontes de carbono, diminuindo o pH, com conseqüente alteração de cor do indicador incluído na formulação. (BRASIL, 2011).

A *Salmonella* (exceto *Typhi*) apresenta colônias com centro vermelho e bordas mais claras. Os coliformes (exceto *Klebsiella* spp. e *Citrobacter* spp.), colônias verde-azuladas; *Klebsiella* spp. e *Citrobacter* spp., colônias violeta. As colônias incolores ou que possuam pigmentação própria são correspondentes à outras bactérias Gram-negativa (BRASIL, 2011).

CHROMagar *Salmonella* é um meio seletivo e diferencial utilizado no intuito de isolar a *Salmonella*, este inclui a *S. Typhi*, caracterizando-as pela cor púrpura, outras espécies de bactérias são, azuis, incolores ou inibidas (BRASIL, 2011).

O Colorex *Salmonella* é utilizado para diferenciação de *Salmonella* spp., incluindo *S. Typhi*, diretamente de espécimes clínicos e de alimento. Apresenta em sua composição misturas cromogênicas especiais que permitirão diferenciar *Salmonella* de outras bactérias, baseando-se na cor e morfologia das colônias formadas, que irão apresentar coloração púrpura. *Escherichia coli* e outros coliformes se apresentarão azul-esverdeados, enquanto outros microrganismos incapazes de hidrolisar esse composto cromático vão apresentar-se incolores. Esse meio possui capacidade de inibir Gram-positivas (BRASIL, 2011).

## 2.7 LEGISLAÇÃO

Com o crescente aumento do comércio, importação e exportação de produtos e gêneros alimentícios, aumentou-se também a preocupação dos países sobre os possíveis riscos que esses produtos poderiam gerar à sua população. Em 1963 criou-se o Codex Alimentarius, que se trata de um fórum internacional que se preocupa em assegurar e padronizar práticas sanitárias (BRASIL, 2016). Ele estabelece normas, diretrizes e códigos de prática, visando aumento da segurança dos alimentos e sua qualidade para os países importadores (FAO, 2016).

Existem diversos dispositivos para diversos alimentos, um dos específicos para a *Salmonella* spp. no Codex Alimentarius, sendo um deles intitulado “CODE OF HYGIENIC PRACTICE FOR EGGS AND EGG PRODUCTS” (CAC/RCP 15 – 1976) que é antigo, mas estabelece os riscos que a *Salmonella* spp. pode acarretar aos consumidores de ovos (FAO, 1976). O segundo como “GUIDELINES FOR THE CONTROL OF CAMPYLOBACTER AND SALMONELLA IN CHICKEN MEAT” (CAC / GL 78-2011), lá são estabelecidas orientações e informações para que os governos e as suas indústrias tenham um maior controle desses agentes na carne de frango (FAO, 2011).

No Brasil existem diversas legislações envolvendo a produção de ovos, com a devida segurança e controle da salmonelose. Por exemplo, o Decreto nº 30.691 de 29 de março de 1952 no Título IX, aonde é regularizada a Inspeção Industrial e Sanitária dos Ovos e Derivados, neste decreto não é especificado a questão da presença *Salmonella*, mas garante uma maior qualidade dos ovos inspecionados (BRASIL, 1952).

Posteriormente foi aprovado o Decreto nº 56.585, de 20 de julho de 1965, no qual aprova as novas especificações para a classificação e fiscalização do ovo (BRASIL, 1965). Em 1990 surgiu a Portaria nº 1, de 21 de fevereiro que aprova as normas gerais de inspeção de ovos e derivados,



caracterizando o ambiente de inspeção, e as normas a serem seguidas para correta inspeção desses produtos. Obrigando as indústrias de ovos a submeterem seus produtos ao processo de inspeção (BRASIL, 1990).

Passado alguns anos foi aprovada a Resolução nº 005 de 05 de julho de 1991, esta, estipula a descrição do produto, composição, aditivos, medidas de higiene, peso e medida, rotulagem, e métodos de análise, aumentando a padronização do produto (BRASIL, 1991).

A ANVISA emitiu Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 que estabelece a ausência de *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* e outro patógenos em 25g de amostra em qualquer alimento comercializado no Brasil, sendo um grande passo para o controle das DTA (BRASIL, 2001). Em agosto de 2003 foi aprovada a Instrução Normativa nº 62 que tinha como objetivo oficializar a metodologia de análise microbiológica nos produtos de origem animal, que no capítulo XV instrui a respeito da metodologia analítica para detecção de *Salmonella* spp. em amostras de alimentos (BRASIL, 2003b).

A Instrução Normativa nº 78, de 3 de novembro de 2003, que tem como medida “Aprovar as Normas Técnicas para Controle e Certificação de Núcleos e Estabelecimentos Avícolas como livres de *Salmonella* Gallinarum e de *Salmonella* Pullorum e Livres ou Controlados para *Salmonella* Enteritidis e para *Salmonella* Typhimurium, em anexo” contribuindo para redução dos casos desse agente em criadouros. Em seu anexo, no capítulo 1, exige-se que o estabelecimento avícola deva estar certificado como livre de *Salmonella* Gallinarum, *Salmonella* Pullorum (prejudicial aos animais) e livre ou controlado para *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium (prejudiciais ao homem) (BRASIL, 2003a).

A Instrução Normativa nº 78, de 3 de novembro de 2003 que veta a vacinação contra *Salmonella* Enteritidis, exceto nos casos dispostos em seu capítulo IV, que somente permite vacinas inativadas em estabelecimentos matrizeiros. Já em estabelecimentos avoseiros, bisavoseiros e granjas de seleção genética de reprodutoras primárias, também é vetada a vacinação (BRASIL, 2003a).

No Brasil a fiscalização dos ovos antes de chegar ao mercado de consumo é feita pelos Responsáveis Técnicos das granjas, sua função é salvaguardar os interesses do consumidor, principalmente no quesito sanitário. No Manual do Responsável Técnico consta que o responsável técnico deve: “orientar sobre a importância da manutenção da qualidade higiênico sanitária das instalações e produtos;” e “orientar sobre os cuidados a serem dispensados com os produtos que saem do estabelecimento, salvaguardando os interesses do consumidor, especialmente quanto à Saúde Pública;” (BRASIL, 2007).

O Programa Nacional de Sanidade Avícola (2009) estabelece diversas legislações e medidas para controle das principais doenças que acometem a produção desses animais, além da

sanidade dos seus produtos e subprodutos (BRASIL, 2009a). E em 2009 a ANVISA percebeu a necessidade de avisar a população os riscos da *Salmonella* no ovo e lançou a Resolução-RD de 17 de Junho de 2009, que se refere ao correto acondicionamento do produto e os riscos ao ser consumido cru, com objetivo de diminuir drasticamente as toxinfecções causadas por ovos (BRASIL, 2009b)

Posteriormente foi criada a Instrução Normativa nº 10 de 11 de abril de 2013 e, dentre suas diversas medidas, ela submete estabelecimentos avícolas a realizarem um controle epidemiológico em seus plantéis para a *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium, com colheitas de amostras para a realização de testes laboratoriais, já estabelecimentos para postura comercial suas aves devem ser vacinadas para *Salmonella* Enteritidis. Os testes são feitos em laboratórios oficiais ou credenciados, e os resultados devem ser encaminhado ao MAPA, tudo isso visando maior controle da enfermidade, a instrução normativa também dispõe sobre as medidas a serem tomadas caso algum exame constate a presença da bactéria (BRASIL, 2013).

A OIE (Organização Mundial da Saúde Animal), em meio ao seu código sanitário de animais terrestres de 2015, dedica o capítulo 6.5 justamente a “Prevenção, detecção e controle de *Salmonella* em aves de capoeira”. Países associados devem sempre buscar a seguir essa conduta, tendo assim um controle maior desse problema que pode trazer prejuízos econômicos e de saúde aos consumidores (OIE, 2015).

## 2.8 PREVENÇÃO E CONTROLE

A prevenção das gastroenterites se baseia na manipulação e preparo adequado dos alimentos, correto acondicionamento, e cozimento adequado, esse cuidado deve ser maior com carne de aves e ovos (FERREIRA & CAMPOS, 2008). Tábuas de corte e utensílios podem espalhar essa bactéria, sua limpeza deve ser sempre bem feita após seu uso, além da higienização prévia das mãos (INGRAHAN & INGRAHAN, 2011).

### 2.8.1 Aspectos Imunológicos

A proteção vai depender de diversos fatores imunológicos específicos, ou não específicos, além de mecanismos de defesa microbiológica. Pode ocorrer a resistência da própria microbiota intestinal, a colonização e a própria doença não ocorrer, isso se deve à exclusão competitiva (HIRSH, 2012).

Os anticorpos circulantes vão agir como opsoninas, promovendo a fagocitose agente infeccioso. A destruição das salmonelas fagocitadas acaba induzindo a ativação imunológica de macrófagos por linfócitos, estes são estimulados especificamente (células T). As células NK vão lisar as células infectadas por *Salmonella* (HIRSH, 2012).

A imunidade adquirida é dependente da ativação dos macrófagos que vai ocorrer após interação inicial, entre salmonela e macrófago. Os macrófagos afetados liberam a interleucina 12 (IL-12). Esta vai ativar o subgrupo THI de linfócitos T auxiliares. O subgrupo celular secreta, entre outras citocinas, o ativador de macrófagos, interferon gama. Os macrófagos muito eficientes na destruição de salmonelas intracelulares (HIRSH, 2012).

### **2.8.2 Utilização de bacteriófagos**

A utilização de bacteriófagos (fagos) como terapêutica e controle de doenças bacterianas se iniciou de forma efetiva por d'Herelle, porém após a descoberta dos antimicrobianos, a fagoterapia ficou esquecida (BIER, 1984; MAYR, 1981). De maneira geral a fagoterapia apresenta diversas vantagens sobre o uso de antibióticos. Os fagos são eficientes mesmo contra bactérias resistentes à antibióticos. Outra vantagem é que a eles são hospedeiros-específicos, logo não acometem outras bactérias que compõe a microbiota do animal. São capazes de responder rapidamente à resistência da bactéria, pois os bacteriófagos também sofrem mutação. O custo de desenvolvimento de um novo bacteriófago é menor que de um antibacteriano. E por último, os bacteriófagos não interagem com células eucarióticas, portanto, é incomum efeitos colaterais (MATSUZAKI et al., 2005).

Os estudos baseados em Berchieri Júnior et al. (1991) constataram que a fagoterapia se mostrou eficiente, pois após 12 horas reduziu a carga bacteriana das aves por *S. Typhimurium* no ingluvío, intestino delgado e cecos, após os bacteriófagos serem administrados nos animais com 2 dias de vida. Marietto-Gonçalves et al. (2012) numa infecção experimental em aves, conseguiu eliminar em todo ceco a presença dessas bactérias, associando bacteriófagos e probióticos, estes, compostos por diferentes cepas de *Lactobaccillus* que também auxiliam na exclusão competitiva de outras bactérias.

Um estudo de Suehiro et al. (2013) observou que em ovos de codornas tratados com bacteriófagos específicos conseguiram eliminar os agentes *Salmonella enterica* de ovos previamente infectados. Portanto a utilização da fagoterapia tem mostrado bons resultados.

### **3 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A salmonelose é uma realidade, os órgãos de saúde pública já estão realizando pequenas ações para tentar resolver esse problema, principalmente estipulando normas de armazenamento correto para evitar a proliferação excessiva dessas bactérias. Porém, enquanto não elaborarem plano de ação melhores para o seu controle em granjas e indústrias de alimentos, a população estará sempre exposta ao risco. As pesquisas de vacinas, e outros métodos que diminuam a carga bacteriana nos

animais, são de extrema importância para em um futuro os produtos oriundos de aves possam estar totalmente seguros para o consumo, e os casos de salmonelose tornarem-se raros.

### REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. Relatório anual de atividades 2015. São Paulo, 2015.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE SAÚDE COLETIVA. Segurança alimentar é tema do Dia Mundial da Saúde de 2015. ABRASCO. 2015. Disponível em: <<http://www.abrasco.org.br/site/2015/04/seguranca-alimentar-e-tema-do-dia-mundial-da-saude/>>. Acesso em 1 de out. 2015.

BENNETT, A. R. et al. Use of pyrrolidonyl peptidase to distinguish *Citrobacter* from *Salmonella*. Letters in Applied Microbiology, Oxford. 28: 175-178, 1999.

BERCHIERI JÚNIOR, A.; LOVELL, M.A. e BARROW, P.A. The activity in the chicken alimentary tract of bacteriophages lytic for *Salmonella typhimurium*. Research in Microbiology, v.142, p. 541-549, 1991.

BIER, O. Microbiologia e Imunologia. 23ª. ed. São Paulo: Melhoramentos, 1984. 1234p.

BRASIL, Decreto nº 56.585, de 20 de julho de 1965. Especificações para a classificação e fiscalização do ovo. Brasília, Diário Oficial da União, 22 jul. 1965. Seção 1. p. 6954.

BRASIL, Instrução Normativa nº 78, de 3 de novembro de 2003. Normas Técnicas para Controle e Certificação de Núcleos e Estabelecimentos Avícolas como Livres de *Salmonella gallinarum* e de *Salmonella pullorum* e Livres ou Controlados para *Salmonella* Enteritidis e para *Salmonella typhimurium*. Diário Oficial da União, Brasília, 05/11/2003, Seção 1, p. 3. 2003a

BRASIL, Resolução nº 005 de 05 de julho de 1991. Padrão de Identidade e Qualidade para o Ovo Integral. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, Brasília, 1991

BRASIL. Decreto nº 30.691 de 29/03/52. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Rio de Janeiro, DOFC DE 07/07/1952, P. 10785.

BRASIL. Codex Alimentarius. Ministério Da Agricultura Pecuária E Abastecimento 2016. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/internacional/negociacoes/multilaterais/codex-alimentarius>>. Acesso em 15 de mai. 2016.

BRASIL. Higiene no preparo de alimentos evita contaminação por *Salmonella*. Ministério da Saúde. 2015. Disponível em: <<http://www.blog.saude.gov.br/35051-higiene-no-preparo-de-alimentos-evita-contaminacao-por-Salmonella>>. Acesso em 1 de out. 2015.

BRASIL. Instrução Normativa nº 10, de 11 de abril de 2013. Definir o programa de gestão de risco diferenciado, baseado em vigilância epidemiológica e adoção de vacinas, para os estabelecimentos avícolas especificados. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Brasília, Diário Oficial da União, de 12 de abril de 2013.

## Brazilian Journal of Animal and Environmental Research

- BRASIL. Instrução Normativa nº 62. de 26 de agosto de 2003. Oficializa os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. Brasília, Diário Oficial da União, 18 de set. seção 1, p. 14. 2003b
- BRASIL. Manual do Responsável Técnico. Conselho Regional de Medicina Veterinária de Santa Catarina. 2007.
- BRASIL. Manual Técnico de Diagnóstico Laboratorial da *Salmonella* spp. Ministério da Saúde. Brasília. 64 p. 2011.
- BRASIL. Portaria nº 1, de 21 de fevereiro de 1990. Dispõe sobre as normas gerais de inspeção de ovos e derivados. Brasília, Diário Oficial da União, 6 de mar. 1990.
- BRASIL. Programa Nacional de Sanidade Avícola. Manual de Legislação - Programas Nacionais de Saúde Animal do Brasil. Brasília: Ministério da Agricultura e Abastecimento 2009b.
- BRASIL. Relatório de Pesquisa em Vigilância Sanitária de Alimentos. 1. ed. Agência de vigilância sanitária. Brasília, 2012. 171p.
- BRASIL. Relatório do monitoramento da prevalência e do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos em enterococos e salmonelas isolados de carcaças de frango congeladas comercializadas no Brasil. Agência de Vigilância Sanitária. Brasília, janeiro, 2008.
- BRASIL. Relatório do monitoramento da prevalência e do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos em enterococos e salmonelas isolados de carcaças de frango congeladas comercializadas no Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. São Paulo, janeiro, 2008.
- BRASIL. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasília, Diário Oficial da União, Poder Executivo, de 10 de janeiro de 2001.
- BRASIL. Resolução RDC nº 35, de 17 de junho de 2009. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasília, DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO DE 18/06/2009, SEÇÃO 1, PÁGINA 47. 2009a.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. *Salmonella typhimurium* infection associates with raw milk and cheese consumption-Pennsylvania. MMRW Morb Mortal Wkly Rep. v. 56, 2007.
- DECKER, M.; GALVÃO, A. C.; ROBAZZA, W. S. Congresso Brasileiro de Engenharia Química. XX, 2014, Florianópolis, SC, Estudo do crescimento de *Salmonella* em ovos líquidos refrigerados a diferentes temperaturas. 2014.
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. *Salmonella*. 2015. Disponível em: <<http://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/Salmonella.htm>> Acesso em 1 de out. 2015.
- FAO. CODE OF HYGIENIC PRACTICE FOR EGGS AND EGG PRODUCTS. CAC/RCP 15 – 1976.
- FAO. GUIDELINES FOR THE CONTROL OF CAMPYLOBACTER AND *SALMONELLA* IN CHICKEN MEAT. CAC/GL 78-2011.
- FERREIRA, E. O.; CAMPOS, L. C. *Salmonella*. In: TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. Microbiologia. 5. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, p. 329-345, 2008.

FONSECA, E. L. et al. Clonality and antimicrobial Resistance gene profiles of multidrugresistant *Salmonella* enterica serovar Infantis from four public hospitals in Rio de Janeiro, Brazil. J. Clin. Microbiol. v. 44, p. 2767-2772, 2006.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE NATIONS. About Codex.Codex Alimentarius. 2016. Disponível em: <http://www.codexalimentarius.org/about-codex/en/>>. Acesso em 15 de mai. 2016.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Frequently Asked Questions & Answers: FDA's Investigation into the *Salmonella* Enteritidis Outbreak Involving the Recall of Shell Eggs. 27 de Ago. 2010. Disponível em:<<http://www.fda.gov/Food/RecallsOutbreaksEmergencies/Outbreaks/ucm223723.htm>>. Acesso em 11 de maio de 2016.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Playing it safe with eggs. 2015 Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/FoodborneIllnessContaminants/BuyStoreServeSafeFood/ucm077342.htm>>. Acesso em 1 de out. 2015.

FORSYTHE, S. J. Microbiologia da segurança alimentar. Porto Alegre: Artmed, 163p. 2002.

GANTOIS, I.; DUCATELLE, R.; PASMANS, F.; HEASEBROUCK, F.; GAST, R.; HUMPHREY, T. J.; VAN IMMERSSEEL, F. Mechanism of egg contamination by *Salmonella enteritidis*. FEMS Microbiol. Rev. 33 p.718–738, 21 jan. 2009.

GOMES, M. J. P. Enterobacteriácias (*Salmonella* spp.). Bacteriologia da FAVET, UFGRS. Microbiologia clínica. p. 11-13, 2015.

GUERRA, M. P. et al. Enterobactérias e estafilococos em moscas capturadas em feira-livre no município de Teixeira de Freitas-BA/Enterobacteria and staphylococci in flies captured in street market in the municipality of Teixeira de Freitas, Bahia, Brazil. Brazilian Journal of Animal and Environmental Research, v. 2, n. 3, p. 1130-1144, 2019.

GUIBOURDENCHE, M. et al. Supplement 2003 e 2007 (N.47) to the White-Kauffman-Le Minor scheme. Research Microbiology, n. 161, p. 26-29, 2010.

HIRSH, D. C. *Salmonella*. In: HIRSH, D. C.; ZEE, Y. C. Microbiologia Veterinária. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 69-73, 2012.

HOLT, J. G. Bergey's: manual of determinative bacteriology. 9.ed. WHITE, D. G.; FEDORKA-CRAY, P.; CHILLER, T. C. The National Antimicrobial Resistance Monitoring System (NARMS). NMC Annual Meeting Proceedings, Florida, p. 56-60, 2006.

INGRAHAN, J. L.; INGRAHAN, C. A. Introdução à microbiologia: Uma abordagem baseada em estudos de casos. 3 ed. São Paulo: Cengage Learning, 776p. 2011.

LOGUERCIO, A.P. et al. Elisa indireto na detecção de *Salmonella* spp. em linguiça suína. Ciência Rural. v.32, n.6, p.1057- 1062, 2002.

MARIETTO-GONÇALVES, G.A. e ANDREATTI FILHO, R.L. Fagoterapia: uma opção no controle biológico para a salmonelose de origem aviária. Revista de Educação Continuada do Conselho Regional de Medicina Veterinária do Estado de São Paulo, v.10, p. 6-13, 2012.

- MATSUZAKI, S. et al. S.Bacteriophage therapy: a revitalized therapy against bacterial infectious diseases. *J. Infect. Chemother.* 11:211–219, 2005.
- MAYR, A.; GUERREIRO, M.G. *Virologia Veterinária*. 2. ed. Porto Alegre: Sulina. 1981.
- MEAD, G. et al. And the *Salmonella* on raw poultry writing committee. Scientific and Technical Factors Affecting the Setting of *Salmonella* Criteria for Raw Poultry: A Global Perspective. *Journal of Food Protection*. v. 73, n.8, p. 1566-1590, 2010.
- MORAES, D. M. C. et al. Fontes de infecção e perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos de *Salmonella* sp. isoladas no fluxo de produção de frangos de corte. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.81, n.3, p. 195-201, 2014.
- MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. *Microbiologia Médica*. 6 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 1072p. 2009.
- PALANDRI, E; PESSOA, J. H. Enterite por *Salmonella* Não Tifoide. In: VERONESI, R.; FOCACCIA, R. *Tratado de infectologia*. 4 ed. São Paulo: Atheneu, p. 1206-1208, 2009.
- RICARDO, R. et al. Congresso de Nutrição e Alimentação. XII, Porto. Pasteurização a frio de ovos e ovoprodutos por radiação ionizante. 2014.
- SALMON, D.E.; SMITH, T. The bacterium of swine plague. *Am. Mon. Microbiol. J.*, v. 7, p. 2014, 1886.
- SHELOBOLINA, E.S. et al. Isolation, characterization, and U (VI)-reducing potential of a facultatively anaerobic, acid-resistant bacterium from low-pH, nitrate- and U (VI)-contaminated subsurface sediment and description of *Salmonella* subterranea sp. nov. *Appl. Environ. Microbiol.* 70:2959-2965, 2004.
- SILVA, G.R. *Atividade de Alfa-Amilase como Indicadora da Eficiência da Pasteurização de Ovos e sua Qualidade Microbiológica*. 2015. 50f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, Belo Horizonte. 2015.
- SILVA, N.; AMSTALDEN, V. C. *Manual de métodos de análise microbiológicas de alimentos*. 3. ed. São Paulo: Livraria Varela. 2007. 536p.
- SUEHIRO, B. Y. B. et al. Uso de bacteriófagos líticos na desinfecção de casca de ovos contaminados com *Salmonella* enteritidis. In: GONÇALVES, G. A. M. *Utilização de bacteriófagos ambientais em associação com o bacteriófago p22 na redução de Salmonella enteritidis em ovos, frangos, carcaças e recortes*. 61 p. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Botucatu, 2013.
- TÉO, C. R. P. A.; OLIVEIRA, T. C. R. M. *Salmonella* sp. O ovo como veículo de transmissão e as implicações da resistência antimicrobiana para a saúde pública. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 26, n.2, p. 195-210, 2005.
- TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. *Microbiologia*. 10.ed. Porto Alegre: Artmed. 2012.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Salmonella* (non-typhoidal). Ago. 2013. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/en/>>. Acesso em 2 de dez. de 2015.

## **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**

WORLD ORGANIZATION FOR ANIMAL HEALTH. Terrestrial Animal Health Code (2015). OIE. 2015. Disponível em <<http://www.oie.int/international-standard-setting/terrestrial-code/access-online/>>. Acesso em 23 de abr. de 2016.

YAN, S. S. et al. An overview of *Salmonella* typing: Public health perspectives. *Clinical and Applied Immunology Reviews*, v. 4, p. 189-204, 2003.

ZIMMERMANN, M. S.; FRANKLIN, B. T. *The Salmon Family Genealogy & History*, Mount Olive: Salmon Family Association and Seven Lakes; Harris Printing Co., 1990. 339p.