

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA PREVENTIVA E  
SAÚDE ANIMAL

ANDRESSA CARINE DALMUTT

**Caracterização do perfil de resistência aos antimicrobianos de  
estirpes de *Salmonella enterica* isoladas nas distintas fases de  
criação de um sistema de produção integrado de suínos**

São Paulo  
2022

**ANDRESSA CARINE DALMUTT**

**Caracterização do perfil de resistência aos antimicrobianos de  
estirpes de *Salmonella enterica* isoladas nas distintas fases de  
criação de um sistema de produção integrado de suínos**

**VERSÃO CORRIGIDA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

**Departamento:**

Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal

**Área de concentração:**

Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses

**Orientador:**

Profa. Dra. Andrea Micke Moreno

São Paulo  
2022

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

## DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T. 4265  
FMVZ

Dalmutt, Andressa Carine

Caracterização do perfil de resistência aos antimicrobianos de estirpes de *Salmonella enterica* isoladas nas distintas fases de criação de um sistema de produção integrado de suínos / Andressa Carine Dalmutt. – 2022.  
64 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, São Paulo, 2022.

Programa de Pós-Graduação: Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses.

Área de concentração: Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses.

Orientadora: Profa. Dra. Andrea Micke Moreno.

1. Salmonelose Suína. 2. Enterobactéria. 3. Multirresistência. 4. MIC. 5. SE-AFLP I.  
Título.



## CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Caracterização do perfil de resistência a antimicrobianos de estirpes de Salmonella enterica isoladas nas distintas fases de criação de um sistema de produção integrado de suínos", protocolada sob o CEUA nº 5088130519 (ID 007241), sob a responsabilidade de **Andrea Micke Moreno e equipe; Andressa Carine Dalmutt** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADA** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 28/11/2019.

We certify that the proposal "Characterization of resistance profile of Salmonella enterica strains isolated from different phases in an integrated swine production system", utilizing 400 Swines (males or females), protocol number CEUA 5088130519 (ID 007241), under the responsibility of **Andrea Micke Moreno and team; Andressa Carine Dalmutt** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **APPROVED** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 11/28/2019.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **07/2019** a **07/2022** Área: **Epidemiologia Experimental Aplicada As Zoonoses**

Origem: **Animais de proprietários**

Espécie: **Suínos** sexo: **Machos ou Fêmeas** idade: **1 a 24 meses** Quantidade: **400**

Linhagem: **Linhagens híbridas** Peso: **6 a 300 kg**

São Paulo, 12 de novembro de 2022

Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna

Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia  
Universidade de São Paulo

Profa. Dra. Camilla Mota Mendes

Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia  
Universidade de São Paulo



## FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: DALMUTT, Andressa Carine

Título: Caracterização do perfil de resistência aos antimicrobianos de estirpes de *Salmonella enterica* isoladas nas distintas fases de criação de um sistema de produção integrado de suínos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

### Banca Examinadora

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

## AGRADECIMENTOS

À Deus pelo seu amor e por tudo que tenho na vida.

À minha filha, Maria Alice, razão do meu viver, por tornar os dias mais leves e alegres. Inúmeras foram as vezes que, tarde da noite, após concluir algum trabalho, fui até o nosso quarto, te abracei e me senti feliz por você fazer parte da minha vida. A sua existência é o reflexo mais perfeito da existência de Deus.

Aos meus pais, meus irmãos e ao Mailson que sempre me apoiaram e estiveram ao meu lado em todas as decisões da minha vida, que me inspiram a seguir em frente sempre.

Agradeço a professora Dra. Andrea Micke Moreno pelas inúmeras oportunidades, confiança, ensinamentos, disponibilidade, pelas palavras e paciência depositada ao longo do trabalho. Serei eternamente grata.

Agradecimento em especial a Luísa Zanolli por toda atenção e ajuda ao longo do mestrado.

Aos meus amigos e técnicos do Laboratório de Sanidade Suína pela total atenção, ajuda, apoio, pelas risadas e pelas gordices: Ana Paula Santos Silva, Alexandre Sanches, Rosilma Andrade e Rose Augusto.

Ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental Aplicado às Zoonoses e à Universidade de São Paulo – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ).

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001.

Ao CNPq pelo período de bolsa concedida e realização deste trabalho.

Por fim, a todos aqueles que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização desta dissertação, o meu sincero agradecimento.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	<b>8</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>9</b>
<b>1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>10</b>
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>22</b>
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>23</b>
3.1 MATERIAL.....	23
3.2 BACTERIOLÓGICO.....	23
3.3 IDENTIFICAÇÃO DAS ESTIRPES POR MALDI-TOF.....	23
3.4 PERFIS DE RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS.....	24
3.5 SEQUENCIAMENTO DO GENOMA.....	26
<b>4. RESULTADOS</b> .....	<b>27</b>
<b>5. DISCUSSÃO</b> .....	<b>43</b>
<b>6. CONCLUSÕES</b> .....	<b>52</b>
<b>7. REFERÊNCIAS</b> .....	<b>53</b>

## RESUMO

DALMUTT, A. C. **Caracterização do perfil de resistência aos antimicrobianos de estirpes de *Salmonella enterica* isoladas nas distintas fases de criação de um sistema de produção integrado de suínos** [Characterization of the antimicrobial resistance profile of *Salmonella enterica* strains isolated in the different production phases in an integrated swine production system]. 2022. 64 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2022.

*Salmonella enterica* é um importante agente bacteriano de caráter zoonótico que está amplamente disseminado nos sistemas de produção de suínos. Tendo em vista o crescimento do uso intensivo de antimicrobianos na produção animal nos últimos anos, o presente estudo tem por objetivo principal avaliar a evolução do perfil de resistência a antimicrobianos de estirpes de *Salmonella enterica* isoladas nos anos de 2012 e 2020, em um sistema integrado de produção de suínos da região Sul do Brasil. Foram analisadas 145 estirpes de *Salmonella enterica* isoladas em 2012 e 46 isoladas em 2020. Os isolados foram submetidos a determinação da concentração inibitória mínima, caracterização genotípica e identificação do sorotipo e MLST pelo sequenciamento do genoma. A frequência de isolamento foi de 32,2% em 2012 e 10,2% em 2020. Considerando as fases de produção, no ano de 2012 a maior frequência de isolamento foi observada em animais de creche (67,3%), e em 2020 a maior taxa de isolamento ocorreu em animais de terminação (18%). O AFLP revelou tendência em agrupar os isolados segundo as fases de produção e sorotipo. Foi observado aumento na taxa de resistência frente a maioria dos antimicrobianos entre os anos de 2012 e 2020. Os maiores níveis de resistência identificados foram ao ácido nalidixico, florfenicol, sulfadimetoxina, ampicilina, oxitetraciclina e amoxicilina/ácido clavulânico. Os sorotipos com maiores taxas de resistência foram Typhimurium, I4,[5],12:i:-, Panama e Derby em 2012 e Typhimurium, Derby, I 4,[5],12:i:- e London em 2020. Os isolados de 2020 apresentaram 91,3% de multirresistência, contra 80% em 2012. Os resultados obtidos indicam que apesar da redução nas taxas de isolamento de *Salmonella* nos sistemas de produção entre 2012 e 2020, houve aumento nos níveis de resistência e de multirresistência das estirpes. Esses dados indicam que foram realizadas ações visando o controle do patógeno, mas dentre essas ações o uso de antimicrobiano deve ter sido intensificado, levando ao aumento das taxas de resistência.

Palavras-chave: Salmonelose Suína. Enterobactéria. Multirresistência. MIC. SE-AFLP.

## ABSTRACT

DALMUTT, A. C. **Characterization of the antimicrobial resistance profile of *Salmonella enterica* strains isolated in the different production phases in an integrated swine production system** [Caracterização do perfil de resistência aos antimicrobianos de estirpes de *Salmonella enterica* isoladas nas distintas fases de criação de um sistema de produção integrado de suínos]. 2022. 64 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2022.

*Salmonella enterica* is an important bacterial agent of zoonotic character that is widespread in swine production systems. In view of the growth in the intensive use of antimicrobials in animal production in recent years, the main objective of the present study is to evaluate the evolution of the antimicrobial resistance profile of *Salmonella enterica* strains isolated in the years 2012 and 2020, in an integrated swine production system in southern Brazil. Were analyzed 145 strains of *Salmonella enterica* isolated in 2012 and 46 isolated in 2020. The isolates were submitted to determination of the minimum inhibitory concentration, genotypic characterization, and identification of the serotype and MLST by genome sequencing. The isolation rate was 32.2% in 2012 and 10.2% in 2020. Considering the production phases, in 2012 the highest frequency of isolation was observed in unweaning piglets (67.3%), and in 2020 the highest isolation rate occurred in finishing animals (18%). The AFLP showed a tendency to group the isolates according to the stages of production and serotype. An increase in resistance rate to most antimicrobials was observed between 2012 and 2020. The highest levels of resistance identified were against nalidixic acid, florfenicol, sulfadimethoxine, ampicillin, oxytetracycline and amoxicillin/clavulanic acid. The serotypes with the highest resistance rates were Typhimurium, I4,[5],12:i:-, Panama and Derby in 2012 and Typhimurium, Derby, I 4,[5],12:i:- and London in 2020. Isolates from 2020 showed 91.3% of multidrug resistance, against 80% in 2012. The results obtained indicate that despite the reduction in *Salmonella* isolation rates in production system between 2012 and 2020, there was an increase in the levels of resistance and multidrug resistance in evaluated strains. These data indicate that actions were taken to control the pathogen, but among these actions, the use of antimicrobials must have been intensified, leading to an increase in resistance rates.

Keywords: Swine Salmonellosis. Enterobacteriaceae. Multi-resistance. MIC. SE-AFLP.

## 1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

A suinocultura brasileira vem ao longo dos últimos anos sofrendo rápida modernização e profissionalização. O objetivo deste processo é produzir carne de alta qualidade, a fim de atender os mais rígidos padrões dos mercados nacionais e internacionais, além de levar ao aumento no volume produzido. Nesse contexto, o controle de microrganismos de origem alimentar tornou-se um tema relevante em toda a cadeia produtiva. A importância de certas enfermidades nas unidades de produção tem sido cada vez maior, pois podem diminuir a produtividade e, conseqüentemente, a lucratividade do sistema (SOBESTIANSKY *et al.*, 2001).

A carne suína é a fonte de proteína animal mais produzida e consumida no mundo, representando quase metade do consumo e da produção de carnes, neste cenário o Brasil ocupa o quarto lugar em produção e exportação (ABPA, 2022). No Brasil, a carne suína é a terceira fonte de proteína animal mais consumida, alcançando cerca de 16,7 kg/habitante/ano. Em 2021 a produção brasileira de carne suína foi de 4,701 milhões de toneladas, sendo que 24,19% foram destinados ao mercado externo. O maior importador foi a Ásia tendo 75,16% de participação. Segundo Gervásio (2016), essa condição de destaque da suinocultura se deve a melhorias na sanidade, genética, biosseguridade, nutrição, manejo adequado nas granjas, produção integrada, aprimoramento gerencial dos produtores e melhoramentos significativos na área de reprodução. Toda a performance do produto brasileiro está fundamentada na produtividade, qualidade de carcaça e nos parâmetros higiênico-sanitários, isso fez com que o Brasil adotasse medidas de controle para os microrganismos que representam riscos à comercialização, como no caso da *Salmonella* (CARDOSO, 2006).

O fardo das doenças transmitidas por alimentos é considerável: todos os anos, de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), quase 1 em cada 10 pessoas adoecem e 33 milhões de anos de vida saudável são perdidos. A infecção por *Salmonella* é considerada uma das quatro principais causas globais de doenças diarreicas (OMS, 2018). A infecção por *Salmonella enterica*, transmitida por alimentos, é uma realidade na maior parte dos países, embora exista surtos associados ao consumo de diferentes alimentos, os produtos de origem animal possuem um relevante papel como fonte de infecção para o consumidor (CASTILLO; MARTÍNEZ; APODACA, 2008).

Entre esses microrganismos, aqueles que causam doenças entéricas em suínos têm-se mostrado com alta relevância e são constantemente observados em inúmeras faixas etárias, levando a grandes impactos, no mundo todo, para a indústria de suínos (JACOBSON *et al.*, 2005). Cerca de trinta por cento das perdas econômicas na suinocultura moderna está

associada a essas infecções (BURCH, 2000). Infecções entéricas tendem a gerar altas taxas de mortalidade e morbidade; contudo, as perdas mais significativas são referentes a sequelas no trato gastrintestinal dos suínos (MCORIST; GEBHART, 1999). A consequência destas lesões é um atraso expressivo no crescimento dos animais, além da diminuição da eficiência alimentar e no alto custo com tratamentos e alimentação extras, que corresponde a cerca de 60% das despesas com antimicrobianos na suinocultura (JACOBSON *et al.*, 2005; PEARCE, 1999).

Entre as bactérias que estão envolvidas em distúrbios entéricos, o gênero *Salmonella* está sempre presente e desempenha um papel importante como patógeno e reservatório de genes de resistência antimicrobiana. Além disso, os suínos são portadores de vários sorotipos de *Salmonella*, por isso também são importantes na transmissão desse microrganismo aos humanos; podendo ser uma fonte direta de infecção humana devido à eliminação de *Salmonella* nas fezes, ou indiretamente por meio de manipuladores ou equipamentos, levando a uma contaminação cruzada entre carcaças ou produtos derivados (KICH *et al.*, 2005; LIMA *et al.*, 2016). A espécie suína tem, portanto, se destacado como importante reservatório para diversos sorotipos de *Salmonella* e, assim, reafirmando a transmissão desse organismo ao homem através do consumo dos produtos e derivados ou pela contaminação cruzada com outros produtos alimentícios (BRASIL, 2022).

Dentro da família *Enterobacteriaceae*, o gênero *Salmonella* é formado por bastonetes Gram-negativos, que não formam esporos, são anaeróbios facultativos, reduzem nitratos a nitritos, são oxidase negativos, fermentam glicose e raramente lactose (CLARK; GYLES, 1993). Os membros deste gênero são móveis por flagelos peritricos, exceto *Salmonella enterica* ser. Pullorum e *Salmonella enterica* ser. Gallinarum. A faixa de temperatura para seu crescimento está entre 5°C e 46°C, com temperatura ótima de 37°C, e a faixa de pH está entre 3,8 e 9,5, sendo um valor ótimo entre 6,6 e 8,2. (QUADROS, 2018; RYAN, *et al.*, 2017; SILVA, *et al.*, 2019).

Com exceção da *Salmonella* sorotipo Typhi, produzem ácido e gás a partir de D-glicose e outros carboidratos. Além disso, são indol negativas, produzem ácido sulfídrico (H<sub>2</sub>S), e podem usar citrato como única fonte de carbono. Sobrevivem ao congelamento podendo permanecer no ambiente em longos períodos, de meses a anos. Não são boas competidoras com outros microrganismos contaminantes em alimentos (HOLT; KRIEG; SNEATH, 1994).

No quadro 1 podemos observar a diferença fenotípica das espécies e subespécies de *Salmonella*. No quadro 2, encontra-se a caracterização bioquímica entre *S. Typhi*, *S. sorotipo Paratyphi A* e *Salmonella enterica* subespécie *enterica* (predominantes em isolamentos de origens humanas e animais).

**Quadro 1** - Características fenotípicas das espécies e subespécies de *Salmonella* spp.

Espécies	S. enterica subsp.						S. bongori	S. subterranea
	enterica	salamae	arizonae	diarizonae	houtenae	indica		
Dulcitol	+	+	-	-	-	d	+	+
ONPG (2h)	-	-	+	+	-	d	+	+
Malonato	-	+	+	+	-	-	-	-
Gelatinase	-	+	+	+	+	-	+	-
Sorbitol	+	+	+	+	+	-	+	-
Crescimento KCN	-	-	-	-	+	-	+	+
L(+) Tartarato <sup>(a)</sup>	+	-	-	-	-	-	-	+ <sup>(e)</sup>
Galacturonato	-	+	-	+	+	+	+	ND
g-glutamyl transferase	+ <sup>(b)</sup>	-	+	+	+	+	+	ND
b-glucuronidase	d	d	-	+	-	d	-	ND
Mucato	+	+	+	-(70%)	-	+	+	ND
Salicina	-	-	-	-	+	-	-	ND
Lactose	-	-	-(75%)	+(75%)	-	d	-	-
Lise-fago O <sub>1</sub>	+	+	-	+	-	+	d	ND
Habitat normal animais	Sangue quente		Sangue frio e meio ambiente				?	

Notas: (a): d-tartarato; (b): *S. Typhimurium* (d), *S. Dublin* (-); +: ≥ 90% reações positivas; ≥ 90% reações negativas; (d): diferentes reações (sorovares); (e): crescimento sem produção de ácido. Fonte: Brasil, 2011.

**Quadro 2** - Características bioquímicas de *S. Typhi*, *S. Paratyphi A* e sorovares de *S. enterica* subsp. *enterica* mais frequentes.

	<b>S. Typhi</b>	<b>S. Paratyphi A</b>	<b>S. enterica subsp. enterica</b>
Glicose (gás)	-	+	+
Ácido:			
Dulcitol	+/-		+
Arabinose	-/+	+	+
Descarboxilação:			
Lisina	+	-	+
Ornitina	-	+	+
Dehidrolação da Arginina	+/-	+	+
Produção de H <sub>2</sub> S	+*	-/(+)	+
Citrato de Simmons	-	-	+

Notas: +: positivo; - : negativo; (+) 75% positivo após 48 horas; \*: fraco. Fonte: Brasil, 2011.

O gênero *Salmonella* é classificado com base na caracterização de seus antígenos somáticos de natureza lipopolissacarídea (O), flagelares de natureza proteica (H) e os capsulares relacionados à virulência, sendo identificados até o presente momento 2610 sorotipos (GUIBOURDENCHE *et al.*, 2010; MENDONÇA, 2016). O antígeno O é resistente ao álcool e ao calor, já os antígenos capsulares são resistentes ao calor e os antígenos H são compostos por uma proteína denominada flagelina, que é termolábil, e pode ser inativada lentamente pelo álcool, podendo ser encontrada tanto na forma simples como em duas formas separadas (difásica) (GUIBOURDENCHE *et al.*, 2010).

A nomenclatura para o gênero *Salmonella* utilizada atualmente facilita a comunicação entre profissionais da área da saúde, microbiologistas, e órgãos oficiais de saúde já que sua classificação é bastante complexa (BRENNER *et al.*, 2000). A classificação taxonômica adotada pelo CDC (Center of Disease Control and Prevention) e proposta por Popoff e Le Minor (1997) compreende os seguintes dados: gênero, espécie, subespécie e sorotipo.

Nesta classificação o gênero divide-se em duas espécies, *Salmonella enterica* e *Salmonella bongori*. A espécie *Salmonella enterica* é subdividida em seis subespécies: *enterica* (I), *salamae* (II), *arizonae* (IIIa), *diarizonae* (IIIb), *houtenae* (IV) e *indica* (VI). Seu habitat natural é o trato intestinal de humanos e de outros animais, sendo a maioria das estirpes patogênicas para humanos classificadas como *Salmonella enterica* subespécie *enterica* (MENDONÇA, 2016; NWABOR *et al.*, 2015). A *Salmonella bongori* tem apenas uma única subespécie denominada *bongori* (V) (Quadro 3).

**Quadro 3** - Espécies, subespécies e número de sorotipos conhecidos no gênero *Salmonella*.

<i>Salmonella</i> (espécies e subespécies)	N. de sorotipos em cada subespécie
<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> (I)	1547
<i>S. enterica</i> subsp. <i>salamae</i> (II)	513
<i>S. enterica</i> subsp. <i>arizonae</i> (IIIa)	100
<i>S. enterica</i> subsp. <i>diarizonae</i> (IIIb)	341
<i>S. enterica</i> subsp. <i>houtenae</i> (IV)	73
<i>S. enterica</i> subsp. <i>Indica</i> (VI)	13
<i>S. bongori</i> (V)	23
Total	2610

Fonte: GUIBOURDENCHE *et al.*, 2010.

Os diferentes sorotipos de *Salmonella* são capazes de causar doenças sistêmicas associadas a certas espécies animais, como: *Salmonella enterica* sorotipo Choleraesuis em suínos; *Salmonella enterica* sorotipo Pullorum e *Salmonella enterica* sorotipo Gallinarum em aves; *Salmonella enterica* sorotipo Dublin em bovinos; *Salmonella enterica* sorotipo Typhi em humanos. Alguns sorotipos como Typhimurium e Enteritidis podem causar doença gastrointestinal em amplo espectro de hospedeiros (VOLF *et al.*, 2012).

*Salmonella* continua a ser uma causa significativa de doenças transmitidas por alimentos na medicina humana (HARRISON *et al.*, 2022). A infecção por *Salmonella* é encarada como a zoonose mais veiculada do mundo, sendo a principal causa de gastroenterite em humanos associada ao consumo de alimentos de origem animal (TORPDAHL *et al.*, 2006). *Salmonella* Typhimurium é o sorovar mais comum encontrado em suínos que causa salmonelose de origem alimentar (CDC, 2013). Em humanos, diferentes doenças podem ser observadas dependendo do sorotipo de *Salmonella* envolvidos, levando a quadros de salmonelose não tifoide e febre tifoide (BRASIL, 2022).

Apesar do papel bem conhecido da *Salmonella* como doença transmitida por alimentos (DTA's), é difícil estimar a incidência de DTA's devido à falta de uma relação estrita com os alimentos (FLINT *et al.*, 2005) e uma série de limitações como: as pessoas nem sempre procuram ajuda quando são infectadas; e nem todos os casos positivos são notificados e compartilhados em bancos de dados, isso leva a subnotificações dessas ocorrências de quadros gastrointestinais (CARDOSO; CARVALHO, 2006; KUMAR *et al.*, 2009; MENESES, 2010). Poucos países relatam dados completos sobre a ocorrência de salmonelose

na população e o impacto econômico ocasionado (STEVENS; HUMPHREY; MASKELL, 2009; MAJOWICZ *et al.*, 2010).

O CDC (Centro de Controle e Prevenção de Doenças) relata a *Salmonella* como a segunda principal causa de doenças transmitidas por alimentos nos Estados Unidos e a principal causa de hospitalizações e mortes (HARRISON *et al.*, 2022). Estima-se que 1,3 milhão de casos de doenças transmitidas por alimentos, 26.500 internações, 420 mortes ocorram anualmente nos Estados Unidos, com um ônus econômico estimado em US\$ 3,7 bilhões (CDC, 2022). Houve 91.662 casos de salmonelose humana confirmados em 2017 na União Europeia (AUTHORITY *et al.*, 2017). Presume-se que mundialmente exista 93 milhões de casos/ano de gastroenterites provocadas por *Salmonella* e 155 mil resultando em mortes (MAJOWICZ *et al.*, 2010). Na União Europeia, são notificados mais de 90.000 casos de salmonelose em humanos todos os anos, cerca de 8.000 destes no Reino Unido (PUBLIC HEALTH ENGLAND, 2014).

Na Europa, a salmonelose foi a segunda doença transmitida por alimentos mais frequente, com cerca de 87.923 casos humanos confirmados em 2019; os sorovares *S. Enteritidis* (50,3%), *S. Typhimurium* (11,9%) e *S. Typhimurium* monofásico (8,2%) foram os mais relatados entre os casos (EFSA, 2021).

No Brasil, em 2018, 503 surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA's) foram notificados, com 6.803 doentes, 731 hospitalizados, 9 óbitos relacionados (BRASIL, 2019). Segundo Finger *et al.* (2019), entre os anos de 2000 e 2018, *Salmonella* spp. foi o patógeno mais frequente associados a surtos. De acordo com o MAPA (2018) ela tem sido associada a aproximadamente 34,1% dos surtos notificados entre os anos 2000 e 2017.

No entanto, deve-se destacar que devido a subnotificações das ocorrências de infecções gastrointestinais sem necessidade de internação esses dados podem estar incompletos, somado a isso, vale ressaltar que, no Brasil, não há obrigatoriedade de notificação de doenças transmitidas por alimentos. Além disso, os relatórios oficiais do Brasil, não fornecem a identificação de sorovares de *Salmonella*. Ainda assim, segundo Campioni *et al.* (2018), o sorovar mais prevalente, isolado de surtos de origem alimentar do final dos anos 1980 ao início dos anos 2000, foi a *S. Enteritidis*. A legislação brasileira estabelece a ausência da *Salmonella* em 25g de amostra analisada, por isso o isolamento do agente em alimentos inviabiliza seu consumo e comercialização (ANVISA, 2001).

Os produtos de origem animal desempenham um papel notável como fonte de infecção, principalmente a carne suína e seus derivados, pois são alimentos muito sensíveis à contaminação por *Salmonella*, esse fato está correlacionado à dificuldade de manter os lotes

de suínos livres desse agente nos sistemas verticais de produção e distribuição (CASTAGNA *et al.*, 2004b).

Um baixo número de bactérias viáveis é necessário para causar a infecção em humanos, além disso, as condições de armazenagem, distribuição e preparação dos alimentos podem favorecer a multiplicação do agente. Fatores como manipulação de alimentos e o consumo de produtos cárneos malcozidos elevam a probabilidade de contaminação.

A dose infectante do agente no alimento pode variar de acordo com o status imunológico do hospedeiro, com a virulência da estirpe e com a composição química do alimento, desta forma recém-nascidos, crianças e idosos tornam-se mais vulneráveis a infecção devido à imaturidade ou debilitação do sistema imunológico (KOTTWITZ *et al.*, 2008).

Em humanos a dose infectante varia de  $10^5$  a  $10^8$  UFC/g, no entanto, em pacientes imunossuprimidos, doses infectantes  $\leq 10^3$  são descritas para certos sorovares associados a surtos (BRASIL, 2011). Para estirpes não tifoides, o período de incubação em humanos é de 12 a 72 horas. A infecção ocorre via fecal-oral e a manifestação clínica inclui quadros entéricos agudos ou crônicos. Os sintomas mais comuns são febre, dor abdominal, diarreia, náusea e, algumas vezes, vômito, que podem perdurar por até 7 dias. Na maioria dos casos a recuperação é espontânea (CDC, 2022).

Porém, em casos severos de infecções sistêmicas, é preciso o uso de antimicrobianos, sendo que por muitos anos ampicilina, sulfametoxazol-trimetoprim e cloranfenicol foram os ativos mais recomendados (DE SOUZA *et al.*, 2010). Por esse motivo, ao longo do tempo, as taxas de resistência a esses agentes têm se tornando cada vez maiores, reduzindo significativamente sua eficácia. Em consequência, passou-se a utilizar cefalosporinas de amplo espectro e fluoroquinolonas (LIMA *et al.*, 2016).

O impacto da infecção por *Salmonella*, em suínos, está ligada a dois fatores: a manifestação clínica da doença propriamente dita, e a presença do agente em carcaças e/ou produtos derivados que são capazes de causar intoxicação alimentar em humanos (CASTAGNA *et al.*, 2004b; SCHWARTZ, 2000).

As infecções pelo agente ocorrem principalmente por via fecal-oral. A transmissão dentro do lote se dá de forma dinâmica, visto que existem diversas fontes de infecção e diferentes momentos em que as bactérias são eliminadas. A excreção de fezes contaminadas pelos animais, ausência de limpeza ou falhas no protocolo de desinfecção, vazios sanitários insuficientes, presença de vetores como roedores e moscas, ração e água contaminados, e biossegurança negligenciada, estão entre os principais motivos de perpetuação do agente no rebanho (KICH *et al.*, 2017).

Os suínos podem permanecer como portadores assintomáticos por um período indeterminado, isso representa uma fonte de contaminação para carcaça, já que a infecção pode ocorrer por diversos sorotipos que não causam a doença propriamente dita. Desde o transporte até o abatedouro, assim como nas baias de espera pré-abate, se expostos a situações estressantes como transporte e mistura de lotes, os suínos eliminam a bactéria através das fezes e contaminam, além de animais livres, o próprio ambiente (BESSA; COSTA; CARDOSO, 2004; CASTAGNA *et al.*, 2004b; KICH *et al.*, 2017; SCHWARTZ, 2000).

Supõe-se que cerca de 10% do total de casos de salmonelose sejam associados a produtos de origem suína (SILVA *et al.*, 2016). Mais de 50% das operações de suínos nos EUA são positivas para *Salmonella enterica* de acordo com o National Animal Health Monitoring System (NAHMS) (USDA, 2019). Outros estudos mostraram que a prevalência de *S. enterica* é ainda maior (BAHNSON *et al.*, 2006). Iwu *et al.*, (2016) analisando amostras fecais em rebanhos de suínos adultos em duas fazendas comerciais na África do Sul, concluíram que suínos saudáveis são potenciais reservatórios de *Salmonella* multirresistente que pode ser transmitida aos humanos através da cadeia alimentar.

De acordo com Rodriguez *et al.* (2006) ao avaliar a disseminação de *Salmonella enterica* nas fazendas destinadas à produção de carne bovina, leiteira, frangos e suínos, os patógenos foram isolados três vezes mais (57,3%) nos rebanhos de suínos do que em outras espécies. Além disso, variedade de sorotipos de *Salmonella enterica* isolados das amostras coletadas nos rebanhos de suínos, foi maior em relação as outras produções. Isso sugere que as granjas de suínos podem ser reservatórios de *Salmonella enterica* mais importantes em comparação com outros tipos de produção, tornando a carne suína uma fonte significativa de salmonelose.

Em todas as fases de produção podem existir suínos portadores de *Salmonella*; porém, geralmente, as Unidades produtoras de leitões são as acusadas pela disseminação da doença. Isso se dá por conta da mistura de animais e de lotes provenientes de diferentes estabelecimentos, que constituem um importante fator de risco para a contaminação tanto dos indivíduos quanto do ambiente, somado a isso, sabe-se que a incidência da doença em animais jovens costuma ser elevada (CARDOSO; SILVA, 2011).

Kich *et al.* (2017) relatam que a salmonelose em suínos afeta animais entre cinco semanas e quatro meses de vida, nas fases de creche, crescimento e início da terminação, levando a sinais clínicos relacionados à diarreia/enterocolite (*S. Typhimurium*) ou septicemia (*S. sorotipo Choleraesuis*). No entanto, mesmo sem apresentar manifestações clínicas, os animais adultos também podem carrear a bactéria por longos períodos, esse fato é de extrema

relevância pois essa condição permite a manutenção da doença na granja (JACKSON; COCKCROFT, 2007).

Vários estudos reportam que um número significativo de animais são portadores de *Salmonella* spp. assim que chegam ao abatedouro. O trato intestinal e os linfonodos associados frequentemente estão contaminados pelo agente, configurando uma fonte de contaminação que podem se disseminar pelo abatedouro e contaminar carcaças, ambiente, equipamentos e utensílios (DICKSON *et al.*, 2008). A porcentagem de carcaças contaminadas por *Salmonella* spp. estar ligada ao número de suínos portadores que entram no abatedouro segundo Baptista & Nielsen, (2010). É impossível não correlacionar suíno portador ao risco de contaminação do ambiente de abate, desta forma, quanto maior a prevalência de suínos portadores no abate, maior a contaminação das carcaças. Sendo desse modo, mais difícil de controlar a contaminação da carne em todas as etapas que envolvem o processo do abate (BERSOT, 2005).

A variabilidade da prevalência de *Salmonella* em carcaças de carne suína é comumente relatada em todo o mundo, variando de 2,4% na Europa (EFSA, 2017), 13,8% na Alemanha (METHNER *et al.*, 2011), 39,7% na Espanha (ARGUELLO *et al.*, 2012), 30% no Reino Unido (BOLTON *et al.* 2013) a mais de 35% na China e Camboja (RORTANA *et al.*, 2021; ZHU *et al.*, 2019). A presença de *Salmonella* em sistemas de produção de suínos é uma preocupação mundial, tanto por questões de saúde pública quanto pelas barreiras econômicas impostas pela presença desse agente em produtos (SPRICIGO *et al.*, 2008). Em um estudo realizado por Xu *et al.* (2020), no sul da China, dos anos de 2009 a 2016, um total de 604 isolados de *Salmonella* foram recuperados de 3.340 amostras de carne. Dessas amostras positivas, 269 (29,53%) eram de carne suína e tiveram a maior taxa de isolamento, além de apresentarem a maior diversidade (5 sorotipos).

Estudos no Brasil, empregando métodos bacteriológicos convencionais, indicaram uma prevalência que variou de 16,6% (SILVA *et al.*, 2009) a 83,33% (CASTAGNA *et al.*, 2004). Bessa, Da Costa e Cardoso (2004), no Rio Grande do Sul, relatam que a prevalência de suínos portadores de *Salmonella enterica* em linfonodos mesentéricos e conteúdo intestinal, durante o abate, foi de 55,6%, com identificação de 26 sorovares diferentes. Outro estudo realizado no sul do país apontou as granjas de suínos como a principal fonte de infecção para a contaminação detectada ao abate, com prevalência de 71,6% por isolamento bacteriológico e de 77,8% pela avaliação sorológica (SCHWARZ, 2009). Uma prevalência menor foi encontrada no estado do Mato Grosso, onde Silva *et al.* (2009), detectaram 16,6% das amostras de linfonodos mesentéricos e tonsilas positivas para *Salmonella enterica*,

identificando 14 sorovares, sendo os mais frequentes *S.* sorotipo Derby (16%), *S.* Typhimurium (14%) e *S.* sorotipo London (12%).

Na cadeia de produção de suínos, a contaminação por *Salmonella* tem duas características: primeiro, a presença de sorotipos patogênicos que causam gastroenterite e sepsis em suínos; e segundo, a presença de sorotipos que podem causar doenças em humanos e outros animais, mas não em suínos (BOTTELDOORN *et al.*, 2003; KICH e CARDOSO 2012). Portanto, mesmo que o gênero *Salmonella* seja parte da microbiota entérica dos suínos, sorovares potencialmente patogênicos estão frequentemente envolvidos nas infecções de origem alimentar em humanos, o que caracteriza uma ameaça séria para a saúde pública (CHIU *et al.*, 2004).

Entre os sorovares com maior potencial de risco à saúde pública, destacam-se: *S.* Typhi, para a qual não há reservatórios animais, sendo a forma de disseminação interpessoal, através da água e alimentos contaminados com material fecal humano (SHINOHARA *et al.*, 2008); e *S.* Paratyphi, que causa a febre paratifoide (BARROS *et al.*, 2002), onde os sintomas clínicos são mais brandos (SHINOHARA *et al.*, 2008). Rodrigues *et al.* (2014), descrevem *Salmonella* Typhimurium como o principal sorotipo envolvido em casos de salmonelose, em humanos e em animais, tornando-se relevante no Brasil, devido a sua presença em suínos e alimentos para consumo humano.

Para garantir a segurança dos alimentos que chegam aos consumidores, Silva *et al.* (2016), descrevem que cuidados como limpeza, desinfecção e biossegurança devem ser aplicados desde cedo, começando pelo produtor de leitões, passando pelo transporte adequado, reduzindo a superlotação, e terminando no abate com medidas higiênico-sanitárias rigorosas, uma vez que a *Salmonella* está presente em todas as etapas da cadeia produtiva de suínos.

Com a intensificação dos sistemas de produção, o uso de antimicrobianos de modo profilático se tornou cada vez mais frequente, havendo cada vez mais relatos do isolamento de estirpes resistentes a múltiplos antimicrobianos (VAN BOECKEL *et al.*, 2015).

De acordo com o estudo de Mellor *et al.* (2019) comparando o perfil de resistência a antimicrobianos de *S.* Typhimurium isolados de suínos, bovinos e aves, entre os anos de 2003 e 2014 no Reino Unido, os autores afirmam que os isolados de origem suína apresentaram maior diversidade de perfis de resistência e maior taxa de multirresistência quando comparados com os demais isolados.

Vários estudos abordam a caracterização de estirpes de origem suína ou isoladas de carne. No estudo de Meneguzzi *et al.* (2017), os principais sorovares encontrados foram Typhimurium e Choleraesuis, sendo que quatro cepas apresentaram resistência a apenas um

antimicrobiano e 76,5% foram consideradas multirresistentes. Além disso, Santos *et al.* (2016) relataram a ocorrência de *S. Choleraesuis* em surtos com distúrbios respiratórios e circulatórios em suínos oriundos de nove estados durante os anos de 2013 a 2015 no Brasil.

Considerando a importância da carne suína e derivados na transmissão de *Salmonella* aos humanos, e a crescente prevalência de resistência antimicrobiana em *Salmonella*, incluindo a última geração de medicamentos usados em terapia humana, ressalta ainda mais a necessidade de pesquisas para avaliar continuamente a circulação de cepas resistentes, pois essas características podem se espalhar para outras espécies ou ecossistemas (LIMA *et al.*, 2016).

Há diferentes metodologias para detecção de *Salmonella* spp. tanto em fezes como em tecidos, que são usadas a fim de diagnóstico ou para estudos epidemiológicos. A cultura do agente, considerada a técnica de referência para identificação do agente, geralmente é realizada a partir das fezes e tecidos (GALLAND *et al.*, 2000). No entanto, o isolamento do agente tem suas limitações, já que a presença da bactéria nas fezes ou linfonodos indica a excreção do agente pelo animal no momento da amostragem, e não necessariamente que a ocorrência está relacionada a um quadro clínico de salmonelose. Outros fatores como a baixa sensibilidade do método de cultura e a eliminação fecal intermitente de poucas unidades formadoras de colônia (UFC) no caso de animais portadores assintomáticos, são pontos negativos para a cultura bacteriana (GALLAND *et al.*, 2000; NIELSEN *et al.*, 1995). Algumas células bacterianas podem apresentar menor viabilidade o que dificulta o seu crescimento *in vitro*, além do mais, os agentes da microbiota podem disputar o meio de cultura com a *Salmonella*, determinando a baixa sensibilidade da técnica (CARDOSO, 2006).

Para melhorar a taxa de sucesso de isolamento, recomenda-se uma metodologia de três passos: pré-enriquecimento, enriquecimento seletivo e isolamento em meio sólido seletivo. O pré-enriquecimento visa restaurar as células danificadas, é feito a incubação inicial das amostras em meio não seletivo. O enriquecimento seletivo tem por objetivo suprimir a microbiota residente e gerar a proliferação do agente, e o meio sólido seletivo é projetado para promover o desenvolvimento de colônias com características morfológicas que permitam a seleção do agente, para depois fazer a confirmação bioquímica ou molecular (DE PAIVA *et al.*, 2006).

Outros métodos de detecção têm sido sugeridos como a reação em cadeia pela polimerase (PCR) e uso de anticorpos marcados, com o propósito de reduzir o tempo de processamento no laboratório (SCHWARTZ, 2000). A PCR pode ser utilizada tanto para a detecção do agente diretamente em amostras clínicas, como para identificação do gênero e sorotipo, assim como na identificação de genes de virulência e resistência antimicrobiana.

Uma alternativa aos métodos convencionais de subtipagem, é o uso da espectrometria de massa MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption–Ionization Time-of-Flight), um método rápido e reprodutível para identificação bacteriana com alta sensibilidade e especificidade e com custo mínimo (PERSAD *et al.*, 2022). Este método confere algumas vantagens: identificação rápida, pois a preparação da amostra é simples, medição rápida e automatizada, e identificação robusta, sensível e precisa para investigações microbianas em nível de gênero e espécie, enquanto o nível de subespécie ainda é obscuro (MANGMEE *et al.*, 2020).

Muito se tem trabalhado para desenvolver métodos moleculares que permitam a subtipagem de agentes bacterianos. Estes variam desde a análise de mutações pontuais em sítios de cortes enzimáticos ao uso de técnicas de sequenciamento de DNA (NAIR *et al.*, 2014). Entre os métodos que utilizam enzimas de restrição, existem técnicas com reprodutibilidade, especificidade e poder de discriminação variável. Muitas das técnicas têm sido descritas na discriminação de amostras de *Salmonella* fenotipicamente semelhantes com sucesso (HUNT; ADLER; TOWNSEND, 2000).

A eletroforese em gel de campo pulsado (PFGE) foi considerada o método padrão ouro para subtipagem epidemiológica de cepas de *Salmonella* por muitos anos, isso porque é uma técnica reprodutível, com bom poder discriminatório e foi amplamente utilizada para estudos epidemiológicos e na caracterização de isolados provenientes de diferentes espécies (GIAMMANCO *et al.*, 2007). Outro método descrito na literatura é o polimorfismo do comprimento de fragmentos amplificados (AFLP), baseado na restrição do DNA bacteriano com um ou duas enzimas de restrição, seguida da amplificação dos fragmentos de DNA (SAVELKOUL *et al.*, 1999). O AFLP tem a capacidade de revelar variações em todo o genoma, amplificando seletivamente um subconjunto de fragmentos de restrição para comparação. Os fragmentos de restrição analisados são pequenos, e mesmo mutações de 1pb podem ser detectadas. O uso de diferentes conjuntos de enzimas de restrição ou diferentes combinações de primers pode gerar um grande número de perfis no AFLP (LAN; REEVES, 2007).

Atualmente com o desenvolvimento de técnicas de sequenciamento genômico, a avaliação dos genes codificadores de marcadores antigênicos para sorotipos, STs, genes de virulência, resistência a antimicrobianos e outras características bacterianas podem ser obtidas de forma mais imediata e econômica. Esta metodologia aliada a grandes bancos de dados internacionais vem desencadeando grandes avanços para os estudos epidemiológicos, programas de monitoria e descrição de surtos de salmonelose (ASHTON *et al.*, 2016; BALE *et al.*, 2016).

## 2. OBJETIVOS

- Isolamento de *Salmonella enterica* a partir de 450 amostras de fezes de suínos de diferentes idades de um sistema de produção integrado de Santa Catarina;
- Reativação de uma coleção de estirpes de *Salmonella enterica* provenientes do mesmo sistema integrado de produção isoladas em 2012.
- Identificação dos isolados de *Salmonella enterica* pelo método de espectrometria de massa;
- Caracterização do perfil de resistência a antimicrobianos pela determinação da concentração inibitória mínima (CIM);
- Caracterização das estirpes de *Salmonella enterica* através da análise do Polimorfismo do Comprimento de Fragmentos Amplificados (SE-AFLP);
- Caracterização genômica de *Salmonella enterica* a partir da identificação das sequências tipo (STs - MLST) e sorotipagem;
- Comparação entre os perfis fenotípicos e genotípicos nas estirpes isoladas em 2012 e 2020.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Material**

Um total de 145 estirpes de *Salmonella enterica* isoladas em 2012 a partir de 450 amostras de fezes de animais de diferentes fases de produção (fêmeas gestantes e lactantes, leitões de creche e leitões de terminação) de um sistema de integração do Estado de Santa Catarina foram avaliadas no estudo.

Foram coletadas 450 amostras de fezes de animais de diferentes fases de produção (fêmeas gestantes e lactantes, leitões de creche e leitões de terminação) dos mesmos produtores pertencentes ao mesmo sistema de integração do Estado de Santa Catarina e as amostras foram submetidas ao isolamento de *Salmonella enterica*.

#### **3.2 Bacteriológico**

O isolamento bacteriano foi realizado a partir das amostras de fezes. As fezes foram pesadas e 1 g foi semeado em 10 mL de caldo tetracionato com iodo, incubado a 37° C por 24 h em aerobiose. Após esse período, 10 µL do caldo foi semeado em Chromagar *Salmonella*, ágar MacConkey e ágar XLT4, incubados a 37° C por 24 h em aerobiose. Colônias lactose negativa (ágar MacConkey), as que apresentaram precipitação de H<sub>2</sub>S (meio XLT4) e as de coloração roxa no CHROMagar™ *Salmonella* foram semeadas em caldo BHI para identificação pela espectrometria de massa MALDI-TOF.

As estirpes de *Salmonella* entérica previamente isoladas e mantidas em estoque na coleção do Laboratório de Sanidade Suína foram semeadas em placas de ágar MacConkey, Chromagar *Salmonella* e ágar XLT4, as colônias com morfologia característica foram identificadas pelo MALDI-TOF.

#### **3.3 Identificação das estirpes por MALDI-TOF**

O volume de 1 mL do cultivo bacteriano em caldo BHI foi centrifugado a 5.000 rpm por 5 min. O sobrenadante foi descartado; o pélete recebeu 300 µl de água ultrapura e 900 µl de etanol, foi agitado e em seguida os tubos foram centrifugados a 13.000xg por 2 minutos. Após descartar o sobrenadante, os sedimentos foram secos em temperatura ambiente. Aos sedimentos, foram adicionados 50 µl de ácido fórmico (70%), e 50 µl de acetonitrila (100%).

A mistura foi novamente centrifugada a 13.000xg por 2 minutos e o sobrenadante foi transferido a um microtubo novo e armazenado a -20°C.

O resultado foi analisado no espectrofotômetro de massa Microflex™ (Bruker Daltonik) da CETESB (Companhia Ambiental do Estado de São Paulo), com o auxílio técnico da Dra. Maria Inês Zanoli Sato e sua equipe. A identificação bacteriana foi realizada utilizando o programa BioTyper™ (MALDI Biotyper CA Systems) 3.0 (Bruker Daltonik) a partir do qual foi realizada uma comparação dos espectros capturados para cada estirpe com a biblioteca do fabricante. Os critérios para interpretação utilizados neste estudo são os que seguem: escores  $\geq 2.0$  foram aceitos para atribuição de espécie, e escores  $\geq 1.7$  e  $< 2.0$  foram utilizados para identificação de gênero.

### **3.4 Perfis de resistência a antimicrobianos**

Para avaliar a resistência a antimicrobianos das estirpes estudadas foi utilizada a técnica de microdiluição em caldo, seguindo padrões descritos no documento VET01S-CLSI (2020). A determinação da concentração inibitória mínima foi conduzida com o painel de antimicrobianos descrito na Figura 1. As identificações das siglas utilizadas e respectivas informações estão apresentadas no Quadro 4.

O preparo do inóculo foi realizado com o cultivo das estirpes em caldo BHI (Difco) incubado por 24 horas a 37° C. O cultivo teve a turbidez ajustada com solução salina estéril de para obtenção de turbidez óptica semelhante solução 0,5 de McFarland, sendo em seguida avaliada em espectrofotômetro (0,150 a 600 nm). Após o ajuste, a suspensão bacteriana foi diluída na ordem de 1:1000 em caldo Mueller Hinton II (Difco), a fim de se obter uma concentração final de  $5 \times 10^5$  UFC/mL. O volume de 50 µL desta suspensão foi distribuído nas microplacas contendo os antimicrobianos. As placas foram seladas com adesivo estéril e incubadas por 24 horas a 37 °C. Foram utilizadas como controles internos de qualidade as estirpes *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, conforme preconizado pelo documento VET01S-CLSI (2020).

O critério de multirresistência descrito por Schwarz *et al.* (2010) foi utilizado para classificação das estirpes, sendo consideradas multirresistentes àquelas com resistência a três ou mais classes de antimicrobianos.

**Figura 1** - Descrição da microplaca contendo os antimicrobianos que foram utilizados para determinação da concentração inibitória mínima.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	+	+	-
<b>A</b>	TIO 8	AUG 64/32	AUG 32/16	AUG 16/8	AUG 8/4	AUG 4/2	AUG 2/1	AUG 1/0,5	MERO 0,25	AZI 64	CHL 64	NAL 128
<b>B</b>	TIO 4	AMP 64	AMP 32	AMP 16	AMP 8	AMP 4	AMP 2	AMP 1	MERO 0,5	AZI 32	CHL 32	NAL 64
<b>C</b>	TIO 2	FOS 512	FOS 256	FOS 128	FOS 64	FOS 32	FOS 16	FOS 8	MERO 1	AZI 16	CHL 16	NAL 32
<b>D</b>	TIO 1	SUL 1024	SUL 512	SUL 256	STX 4/76	STX 2/18	MERO 8	MERO 4	MERO 2	AZI 8	CHL 8	NAL 16
<b>E</b>	TIO 0,5	MAR 8	MAR 4	MAR 2	MAR 1	MAR 0,5	MAR 0,25	MAR 0,12	MAR 0,06	AZI 4	CHL 4	NAL 8
<b>F</b>	TIO 0,25	CIP 8	CIP 4	CIP 2	CIP 1	CIP 0,5	CIP 0,25	CIP 0,12	CIP 0,06	NEO 16	NEO 8	NEO 4
<b>G</b>	GEN 32	GEN 16	GEN 8	GEN 4	GEN 2	GEN 1	GEN 0,5	COL 16	COL 8	COL 4	COL 2	COL 1
<b>H</b>	FFN 8	FFN 4	FFN 2	FFN 1	FFN 0,5	OXI 32	OXI 16	OXI 8	OXI 4	OXI 2	POS	POS

**Quadro 4** - Lista de antimicrobianos testados e amplitude de concentrações avaliadas para as diferentes classes.

<b>Sigla</b>	<b>Antimicrobiano</b>	<b>Amplitude (µg/mL)</b>	<b>Classe</b>
TIO	Ceftiofur	0,25 - 8	β- Lactâmico
AUG	Amoxicilina/ ácido clavulânico	1/05- 32/64	
AMP	Ampicilina	1 – 64	
MERO	Meropenem	0,25 – 8	Carbapenêmicos
FOS	Fosfomicina	8 – 512	Antibiótico fosfônico
OXI	Oxitetraciclina	2 – 32	Tetraciclina
CHL	Cloranfenicol	4 – 64	Fenicóis
FFN	Florfenicol	0,5 – 8	
NAL	Ácido Nalidixico	8 – 128	Quinolonas
CIP	Ciprofloxacina	0,06 – 8	
MAR	Marbofloxacina	0,06 – 8	
GEN	Gentamicina	0,5 – 32	Aminoglicosídeos
NEO	Neomicina	4 – 16	
AZI	Azitromicina	4 – 64	Macrolídeos
COL	Colistina	1 – 16	Polimixina
SUL	Sulfameditoxima	256 – 1024	Sulfonamidas
STX	Sulfa/ Trimetoprim	2/18 - 4/76	

POS - poço com cultura bacteriana sem antibiótico (controle positivo).

### **3.5 Polimorfismo do comprimento de fragmentos amplificados (SE-AFLP)**

O protocolo descrito por Boom *et al.* (1990) foi empregado na extração do DNA bacteriano. O DNA extraído foi armazenado a -20°C até o processamento. Para a análise de SE-AFLP foi utilizado o protocolo de McLauchlin *et al.* (2000) com restrição única pela enzima *HindIII* (New England Biolabs). Os fragmentos de DNA foram detectados pela eletroforese a 90V por 4 horas em gel de agarose (2%) corado com BlueGreen® (LGC Biotecnologia). As imagens foram capturadas pelo sistema Gel Doc XR sob iluminação UV (Bio-Rad Laboratories). Os fragmentos foram identificados com base no marcador de peso molecular 100 pb DNA Ladder (New England BioLabs).

A análise de agrupamento dos perfis de restrição da SE-AFLP foi realizada com o programa Bionumerics 7.6 (Applied Maths). Os dendrogramas foram obtidos utilizando o coeficiente de Dice e o método de UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*). A distinção dos perfis/grupos de SE-AFLP foi realizada com o ponto de corte de 90% de similaridade genética (VAN BELKUN *et al.*, 2007).

### **3.5 Sequenciamento do genoma**

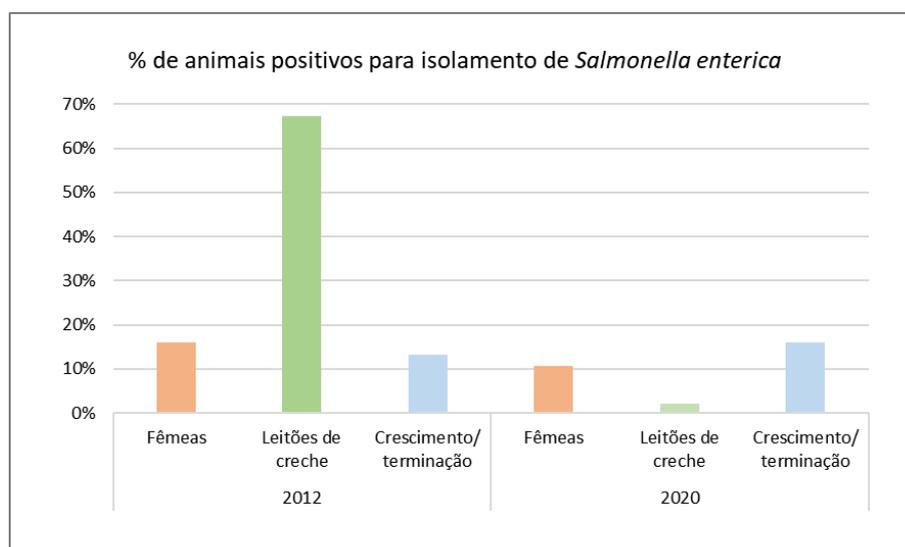
As estirpes foram submetidas ao sequenciamento do genoma completo. O DNA genômico foi extraído com o kit DNeasy Blood & Tissue (QIAGEN) e foi utilizado para preparo de biblioteca com Nextera™ DNA Sample Prep Kit (Illumina®) e sequenciamento paired-end com fragmentos de 300 pares de bases pela plataforma Illumina® MiSeq. Para análise inicial do sequenciamento foram utilizados os programas FastQC 0.10.0 (Babraham Bioinformatics) e CLC Genomics Workbench 7.5 (CLC Bio / QIAGEN).

#### 4. RESULTADOS

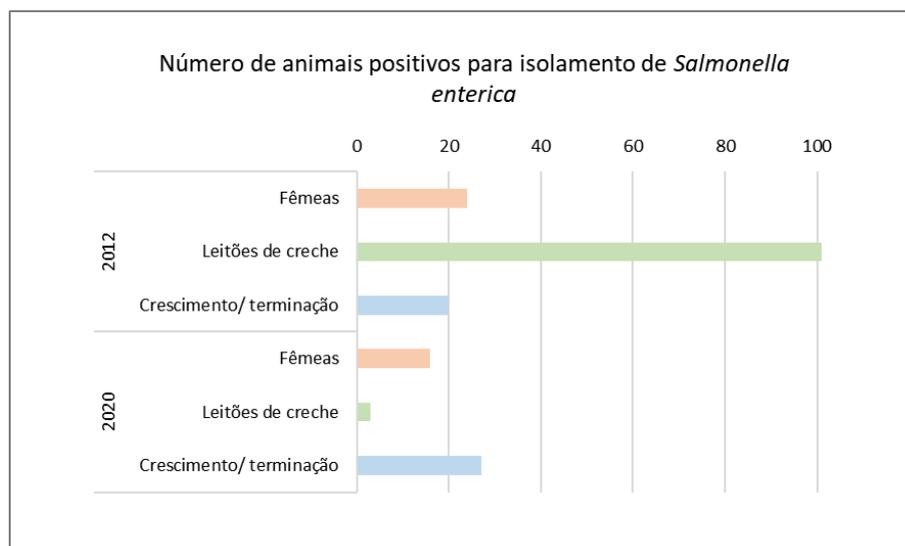
Foram avaliadas 145 estirpes de *Salmonella enterica* isoladas de 145 animais, dentre os 450 animais avaliados no ano de 2012 de um sistema integrado de produção (32,2%). Estas estirpes foram descongeladas e tiveram sua identificação confirmada pelo MALDI-TOF MS. O isolamento realizado em 2020, a partir de 450 amostras de fezes de produtores pertencentes ao mesmo sistema de integração, permitiu a identificação de 46 estirpes (10,2%) de *Salmonella enterica* (46 animais).

No presente estudo, a taxa de isolamento de *Salmonella enterica* em suínos no ano de 2012 em fêmeas foi de 16% (n=24/150), em leitões de creche foi de 67,3% (n=101/150) e em leitões em fase de crescimento e terminação foi de 13,3% (n=20/150). Já no ano de 2020, o isolamento em fêmeas foi de 10,7% (n=16/150), nos leitões de creche foi de 2% (n=3/150) e em fase de crescimento/terminação foi de 18% (n=27/150), conforme o gráfico 1 e gráfico 2.

**Gráfico 1** - Frequência de animais positivos para isolamento de *Salmonella enterica* nas três fases de produção avaliadas nos diferentes períodos.



**Gráfico 2** – Número de animais positivos para isolamento de *Salmonella enterica* nas diferentes fases de produção e de acordo com o ano de isolamento.



Os sorotipos encontrados nas fêmeas no ano de 2012 foram: Typhimurium (29,2%), London (25%), Derby (20,8%), Anatum (12,5%), Panama (8,3%) e Brandenburg (4,2%). Já no ano de 2020, foram encontrados seis sorotipos em fêmeas, são eles: Derby (43,8%), London (25%), Anatum (12,5%), Brandenburg (6,3%), Senftenberg (6,3%) e I4,[5],12:d:- (6,3%), conforme apresentado na tabela 1 e no gráfico 3.

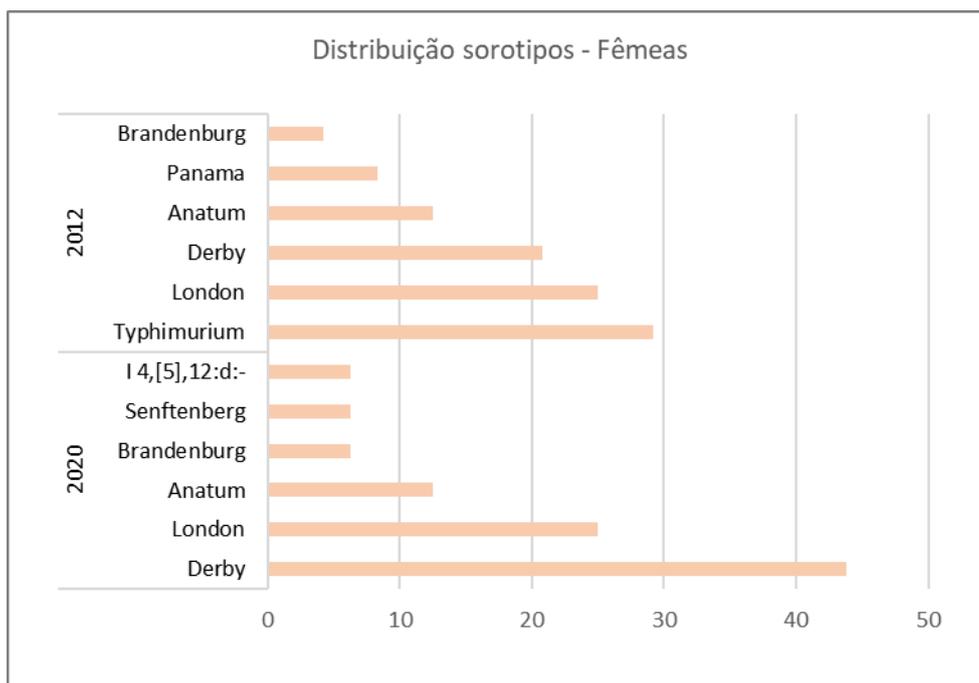
Em leitões de creche, no ano 2012, os sorotipos encontrados foram: Typhimurium (67,4%), I 4,[5],12:i:- (18,8%), Derby (3%), Anatum (1%), Brandenburg (1%), Molade (1%) e Schwarzengrund (1%). Já em 2020, encontrou-se somente três sorotipos: *Salmonella enterica* I4,[5],12:i:- (33,3%), Anatum (33,3%) e Typhimurium (33,3%), conforme apresentado na tabela 1 e no gráfico 4.

Em leitões de crescimento e terminação foram encontrados somente três sorotipos no ano 2012, Typhimurium (55%), I4,[5],12:i:- (25%) e Panama (20%). Já no ano 2020 apenas dois, Typhimurium (85,2%) e I4,[5],12:i:- (14,8%), conforme apresentado na tabela 1 e no gráfico 5.

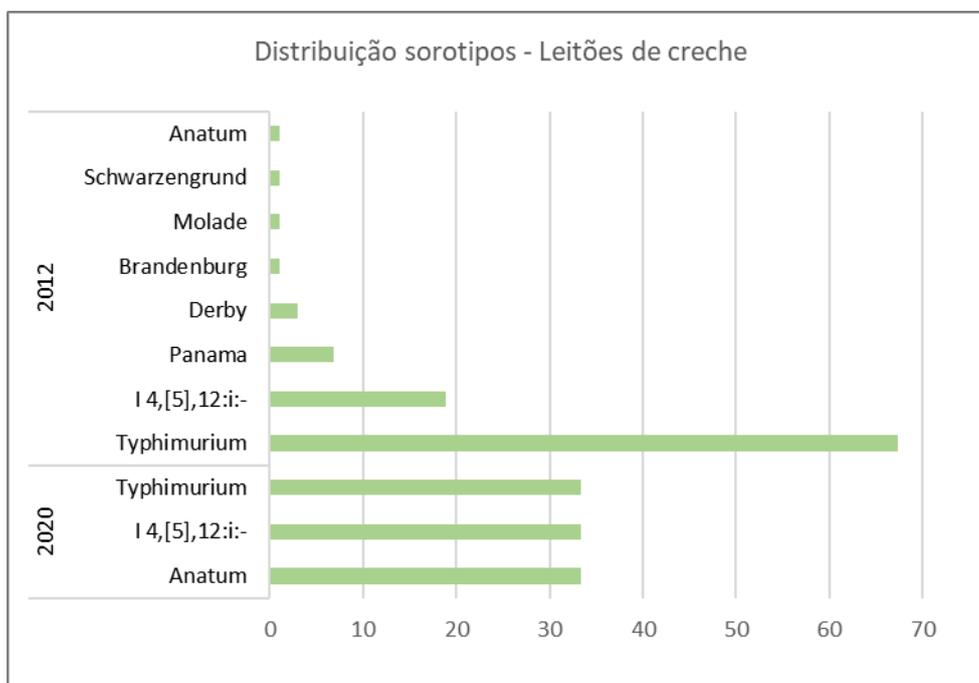
**Tabela 1** – Distribuição dos isolados de *Salmonella enterica* nas diferentes fases de produção conforme o ano de isolamento.

<b>2012</b>	<b>Sorotipo</b>	<b>ST</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Fêmeas	Anatum	64	3	12,5
	Brandenburg	65	1	4,2
	Derby	40	5	20,8
	London	155	6	25,0
	Panama	48	2	8,3
	Typhimurium	19	7	29,2
				24
Leitões de creche	Anatum	64	1	1,0
	Brandenburg	65	1	1,0
	Derby	40	3	3,0
	I 4,[5],12:i:-	19	19	18,8
	Molade	544	1	1,0
	Panama	48	7	6,9
	Schwarzengrund	Novel_ST_E	1	1,0
	Typhimurium	Novel_ST_B	1	1,0
	Typhimurium	1921	3	3,0
	Typhimurium	19	64	63,4
			101	
Crescimento/ terminação	I 4,[5],12:i:-	19	5	25,0
	Panama	48	4	20,0
	Typhimurium	19	10	50,0
	Typhimurium	1921	1	5,0
				20
<b>2020</b>	<b>Sorotipo</b>	<b>ST</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Fêmeas	Anatum	64	2	12,5
	Brandenburg	65	1	6,3
	Derby	40	6	37,5
	Derby	Novel_ST_G	1	6,3
	London	155	4	25
	Senftenberg	14	1	6,3
	I 4,[5],12:d:-	279	1	6,3
				16
Leitões de creche	Anatum	64	1	33,3
	I 4,[5],12:i:-	19	1	33,3
	Typhimurium	19	1	33,3
			3	
Crescimento/ terminação	I 4,[5],12:i:-	19	4	14,8
	Typhimurium	19	22	81,5
	Typhimurium	Novel_ST_F	1	3,7
			27	

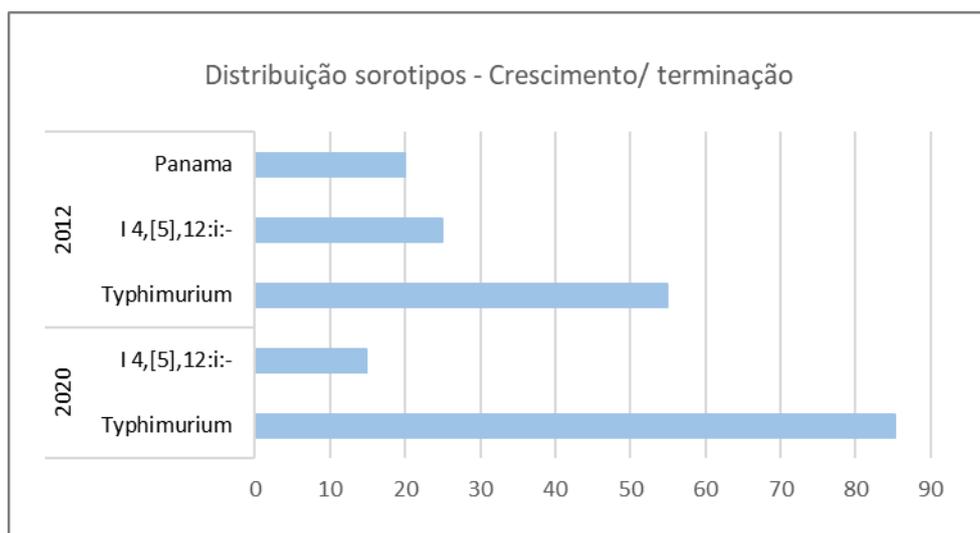
**Gráfico 3** - Distribuição das estirpes de *Salmonella enterica* isoladas em fêmeas suínas de acordo com o ano de isolamento.



**Gráfico 4** - Distribuição das estirpes de *Salmonella enterica* isoladas em leitões de creche de acordo com o ano de isolamento.

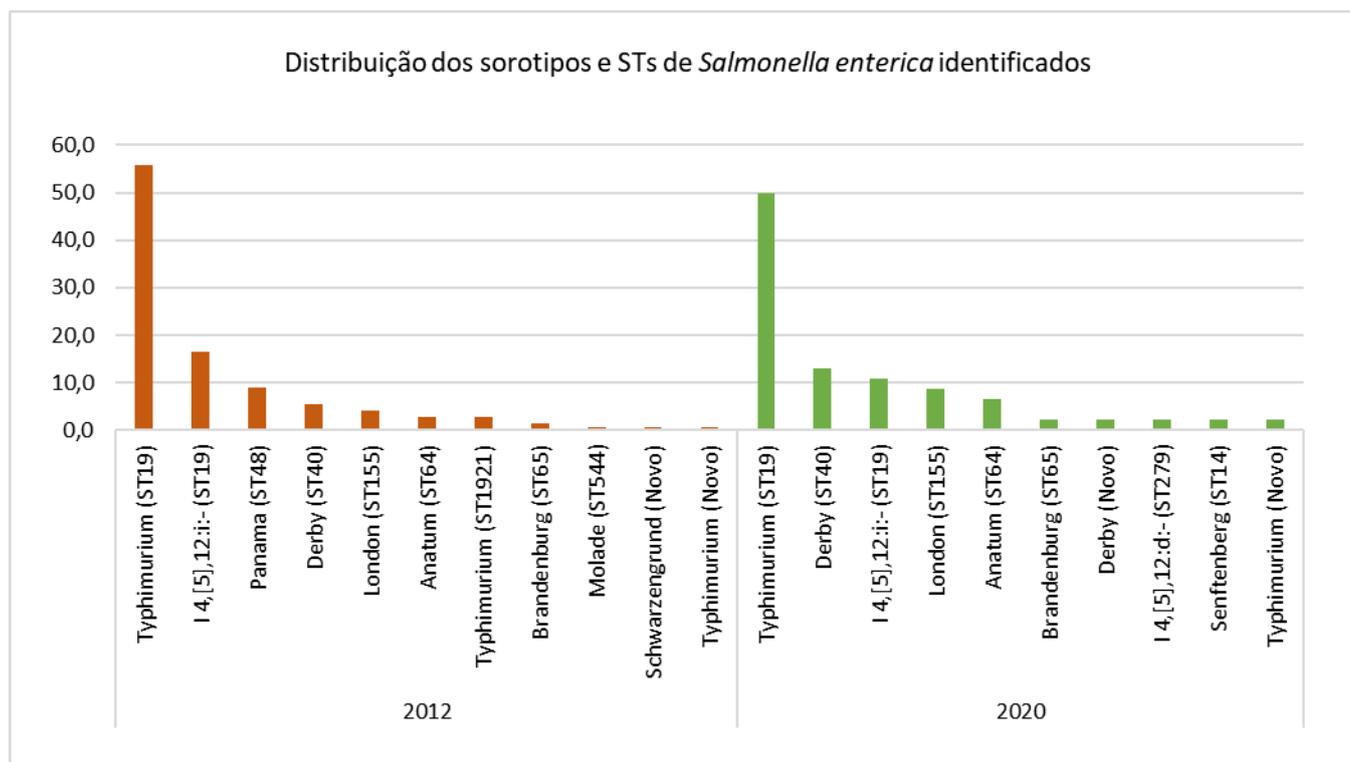


**Gráfico 5** - Distribuição das estirpes de *Salmonella enterica* isoladas em leitões de crescimento/terminação de acordo com o ano de isolamento.



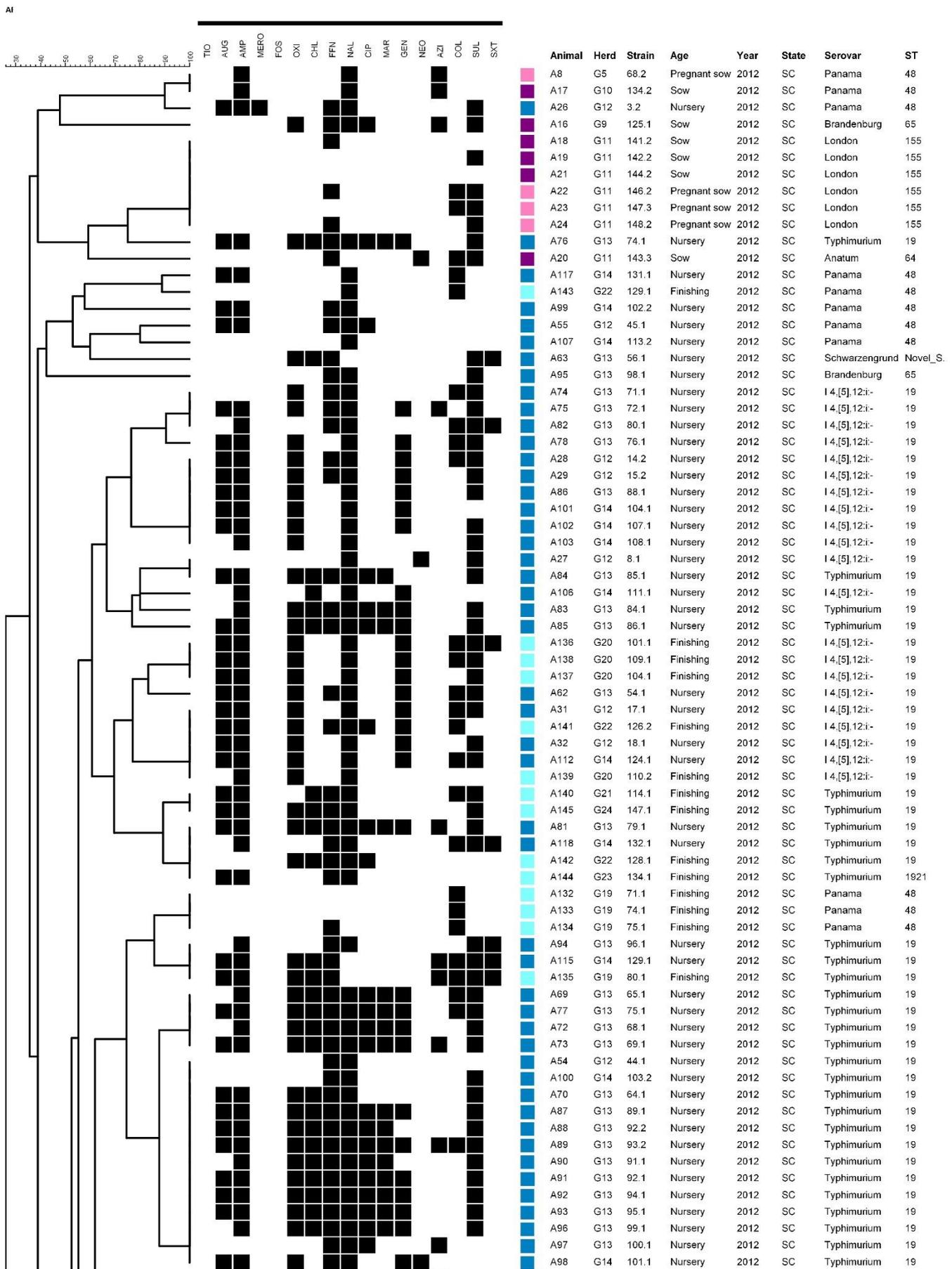
No ano de 2012, entre todas as fases de criação, o sorotipo Typhimurium (ST19) teve maior frequência de identificação (53,3%), seguido pelo sorotipo I4,[5],12:i:- (ST19) com 15,7%; Panama (ST48) 8,5%; Derby (ST40) 7,5%; London (ST155) 5,2%; Anatum (ST64) 3,6%; Typhimurium (ST1921) 3,3%; Brandenburg (ST65) 1%; Molade (ST544) 0,7%; Schwarzengrund (Novo ST) 0,7% e Typhimurium (Novo ST) com 0,7%. Já no ano 2020, também o sorotipo Typhimurium (ST19) foi o mais frequente com 50,8%; depois Derby (ST40) com 13,8%; I4,[5],12:i:- (ST19) 10,8%; London (ST155) 9,2%; Anatum (ST64) 6,2%; Brandenburg (ST65) 1,5%; Derby (Novo ST) 0,8%; I4,[5],12:d:- (ST279) 2,3%; Senftenberg (ST14) 2,3% e Typhimurium (Novo ST) com 1,5%. A presença dos sorotipos e STs em ambos os anos foi similar, exceto pelos sorotipos Panama (ST48) e Typhimurium (ST1921) identificados apenas no ano 2012, assim como os sorotipos I4,[5],12:d:- (ST279) e Senftenberg (ST14) identificados apenas em 2020 (Gráfico 6).

**Gráfico 6** - Distribuição dos sorotipos e *Sequence Types* (STs) dentre as estirpes de *Salmonella enterica* isoladas de acordo com o ano de isolamento.

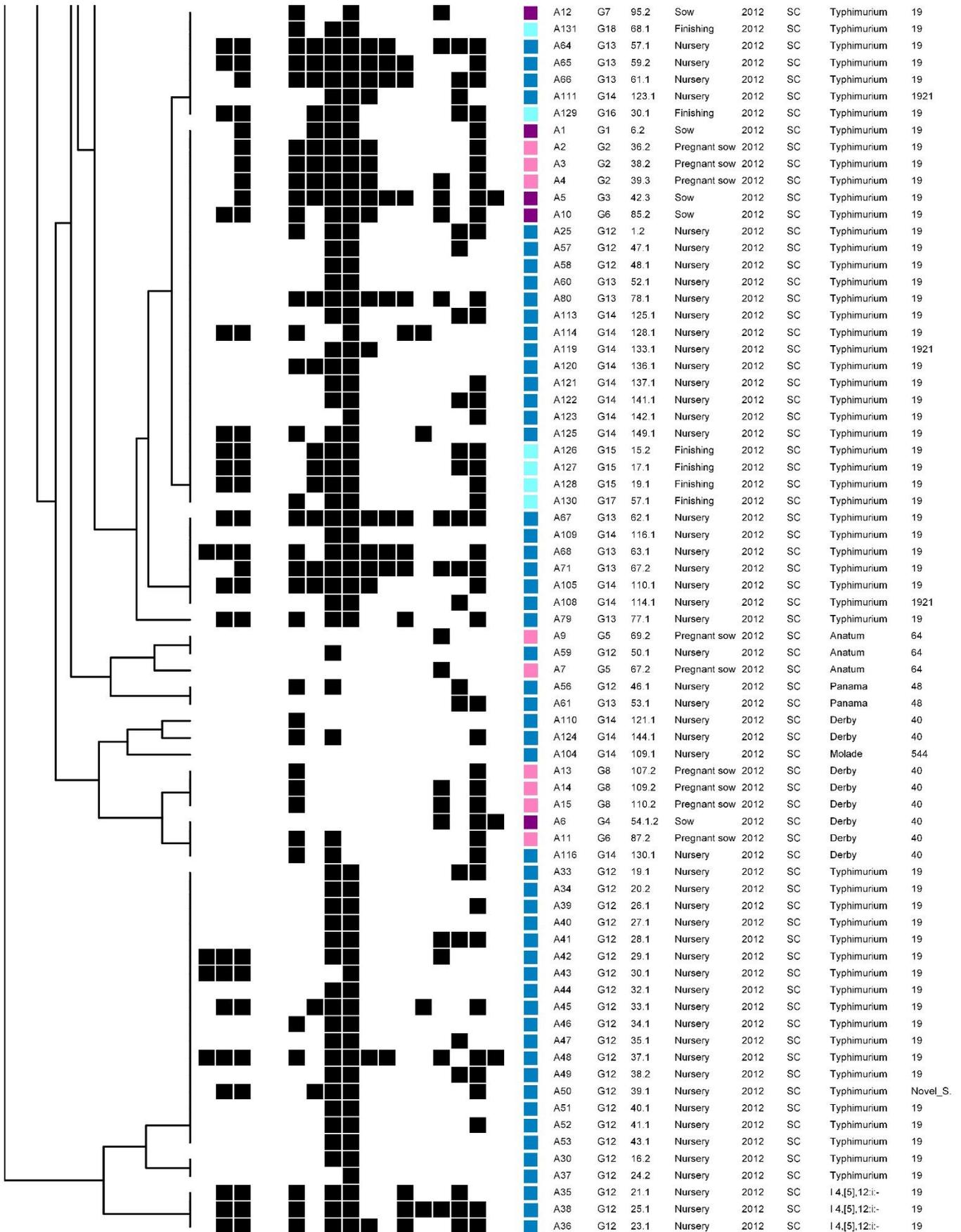


As 145 estirpes selecionadas no ano 2012 foram caracterizadas pelo AFLP, e agrupadas em 9 perfis com mais de 60% de similaridade (Figura 2). Pode-se observar que existem 7 perfis compostos por estirpes originárias das três diferentes fases de produção. Considerando os agrupamentos com mais de 90% de similaridade genética, foram observados 21 genótipos e observa-se uma tendência de agrupar os isolados segundo as fases de produção (n=12/21) e sorotipo. Destaca-se também que a maioria dos agrupamentos são compostos por diferentes granjas, sendo compostos de 2 até 12 rebanhos distintos, indicando que os mesmos perfis circulam em diferentes granjas.

**Figura 2** – Dendrograma ilustrando as relações entre os perfis obtidos na análise de estirpes de *Salmonella enterica* isoladas em 2012 pela técnica de AFLP e perfil de resistência a antimicrobianos.

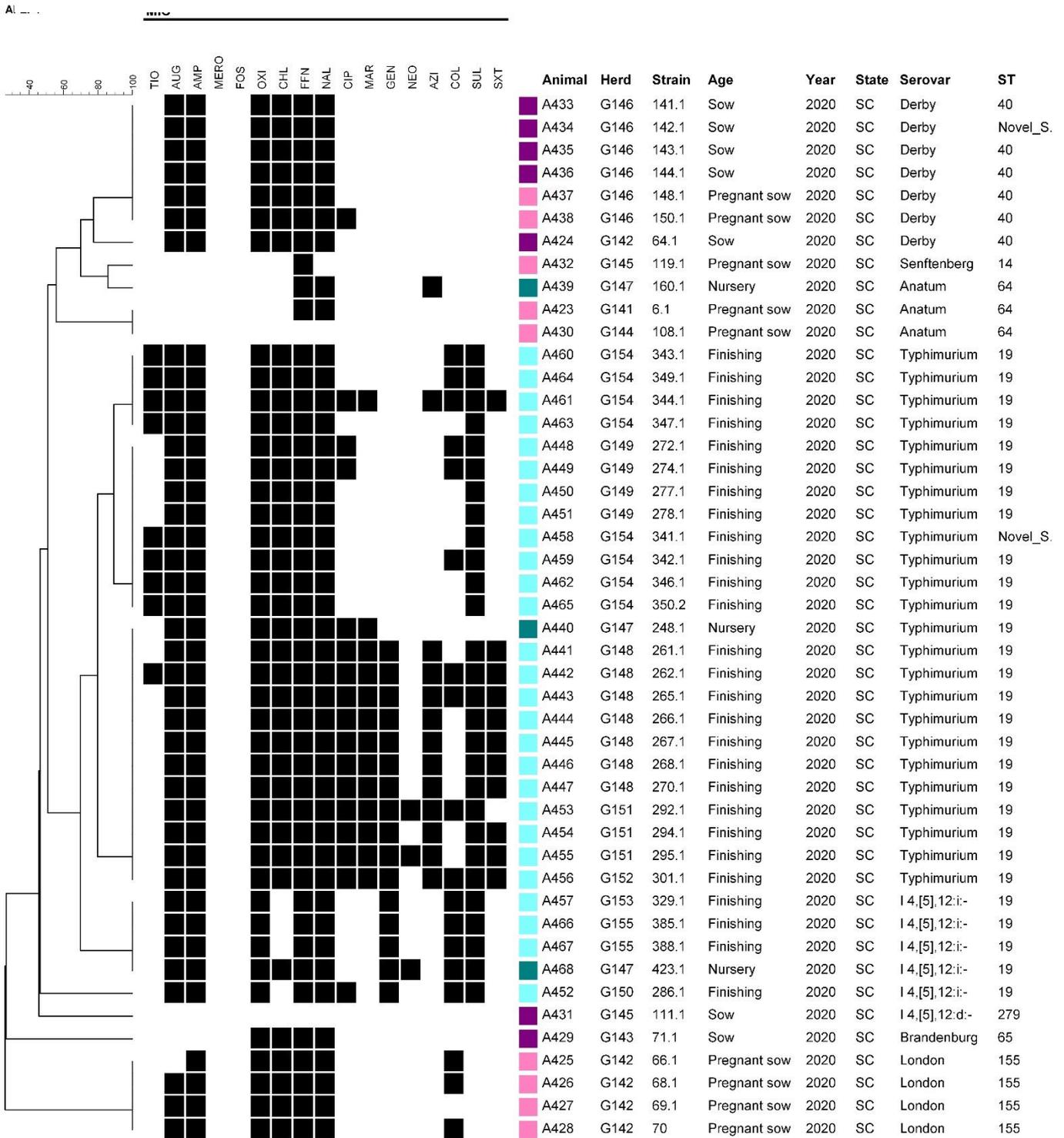


Continuação...



Já as 46 estirpes selecionadas no ano 2020 foram agrupadas em 4 genótipos com mais de 60% de similaridade genética (Figura 3). Pode-se observar que a maioria genótipos são compostos por estirpes originárias das diferentes fases de produção. Considerando os agrupamentos com mais de 90% de similaridade genética, foi obtido 6 genótipos e observa-se também uma tendência em agrupar os isolados segundo as fases de produção e sorotipo. Pode se observar que desses 6 genótipos, 3 (I, II, VI) reuniram isolados apenas de fêmeas, e os sorotipos agrupados foram Derby, Anatum e London, respectivamente. Dois grandes grupos (III e IV) são compostos por 12 isolados cada, ambos formados pelo sorotipo Typhimurium isolados de leitões em terminação, exceto um isolado do genótipo III que é de leitões de creche. Os grupos I (n=6) e VI (n=4) são compostos somente por uma única granja, o grupo II (n=2) e III (n=12) por duas granjas, o grupo V (n=4) por três granjas e o grupo IV (n=12) composto por 7 granjas distintas. Analisando o agrupamento das estirpes isoladas em 2012 e 2020 não foi possível identificar tendência de agrupamento de acordo com o ano de isolamento.

**Figura 3** – Dendrograma ilustrando as relações entre os perfis obtidos na análise de estirpes de *Salmonella enterica* isoladas em 2020 pela técnica de AFLP e perfil de resistência a antimicrobianos.



A partir do dendrograma (Figura 2), pode-se identificar os perfis de resistência nas 145 estirpes isoladas no ano de 2012. Destaca-se nessa figura que dos 74 isolados de *S. Typhimurium*, 19 estirpes foram resistentes a até doze classes de antimicrobianos testados, sendo 18 dessas isoladas de animais de creche e apenas uma de amostra de fêmea.

Na Figura 3, observa-se a descrição dos perfis de resistência nas 46 estirpes no ano de 2020. Vale salientar que todas as estirpes de *S. Typhimurium* (n=24) apresentaram multirresistência, com resistência a até 14 classes de antimicrobianos testados, todos isolados são de animais de crescimento e terminação.

Dentre os antimicrobianos testados (n=17), 14 tiveram aumento na frequência de resistência comparando o ano de 2012 (tabela 2) para o ano de 2020 (tabela 3), foram eles: TIO (2,8%/19,6%), AUG (40%/84,8%), AMP (54,5%/87%), OXI (53,1%/89,1%), CHL (30,3%/80,4%), FFN (33,1%/95,7%), NAL (81,4%/93,5%), CIP (26,9%/37%), MAR (17,9%/28,3%), GEN (29,7%/34,8%), NEO (4,8%/6,5%), AZI (18,6%/28,3%), COL (32,4%/39,1%) e SXT (6,9%/23,9%). Todas as estirpes de ambos os anos foram sensíveis à fosfomicina e meropenem. Somente a sulfadimetoxina teve redução da resistência do ano 2012 para o 2020 (64,8%/60,9%).

No ano 2012 a resistência das estirpes de *Salmonella* frente ao ácido nalidixico (81,4%) foi a mais alta entre todos os antimicrobianos (Tabela 2), seguida pela resistência a sulfadimetoxina (64,8%), resistência a ampicilina (54,5%), e oxitetraciclina (53,1%). Já no ano 2020 (tabela 3), a resistência mais alta foi observada frente ao florfenicol (95,7%), seguido pelo ácido nalidixico (93,5%), oxitetraciclina (89,1%) e amoxicilina/ácido clavulânico (84,8%). Dessa forma as classes que permaneceram resistentes em ambos os anos foram as quinolonas, os  $\beta$ -Lactâmicos e a tetraciclina.

**Tabela 2** – Distribuição das estirpes do ano de 2012 avaliadas segundo a CIM obtida frente aos diferentes antimicrobianos.

Antimicrobianos CIM (µg/ml)	Número de cepas – 2012													CIM*50 (µg/mL)	CIM*90 (µg/mL)	Res %
	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256			
Ceftiofur	0	0	4	28	88	21	0	1	3	0	0	0	0	0,5	2	2,8
Amoxicilina/ clavul.	0	0	0	0	19	33	14	6	15	44	12	2	0	16	32	<u>40,0</u>
Ampicilina	0	0	0	0	24	30	12	0	0	1	0	78	0	>64	>64	<u>54,5</u>
Meropenem	0	0	0	144	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0,5	0,5	0
Fosfomicina	0	0	0	0	0	0	0	130	12	1	1	1	0	8	16	0
Oxitetraciclina	0	0	0	0	0	60	8	0	0	0	77	0	0	>32	>32	<u>53,1</u>
Cloramfenicol	0	0	0	0	0	0	27	67	7	4	0	40	0	8	>64	<u>30,3</u>
Florfenicol	0	0	0	0	0	1	36	60	48	0	0	0	0	8	>8	<u>33,1</u>
Ácido Nalidixico	0	0	0	0	0	0	0	27	0	1	49	64	1	64	128	<u>81,4</u>
Ciprofloxacina	27	4	42	31	11	3	3	18	6	0	0	0	0	0,25	8	26,9
Marbofloxacina	27	4	32	41	12	3	2	22	2	0	0	0	0	0,5	8	17,9
Gentamicina	0	0	0	78	12	5	0	7	16	14	13	0	0	0,5	32	29,7
Neomicina	0	0	0	0	0	0	138	4	1	2	0	0	0	4	4	4,8
Azitromicina	0	0	0	0	0	0	12	62	44	22	4	1	0	8	32	18,6
Colistina	0	0	0	0	18	80	32	9	4	2	0	0	0	2	8	<u>32,4</u>

CIM (µg/ml)	≤256	512	1024	>1024	CIM*50 (µg/mL)	CIM*90 (µg/mL)	Res %
Sulfadimetoxina	51	2	2	90	>1024	>1024	<u>64,8</u>
CIM (µg/ml)	≤2/38	4/76	>4/76		CIM*50 (µg/mL)	CIM*90 (µg/mL)	Res %
Sulfa/trimetoprim	135	1	9		≤2/38	≤2/38	6,9

**Tabela 3** – Distribuição das estirpes do ano de 2020 avaliadas segundo a CIM obtida frente aos diferentes antimicrobianos.

Antimicrobianos CIM (µg/ml)	Número de cepas – 2020													CIM*50 (µg/mL)	CIM*90 (µg/mL)	Res %
	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256			
Ceftiofur	0	0	0	2	24	11	1	2	6	0	0	0	0	1	16	19,6
Amoxicilina/ clavul.	0	0	0	0	4	2	0	0	1	27	4	8	0	32	>64	<u>84,8</u>
Ampicilina	0	0	0	0	3	3	0	0	0	0	0	40	0	>64	>64	<u>87,0</u>
Meropenem	0	0	0	45	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	0,5	0
Fosfomicina	0	0	0	0	0	0	0	37	8	0	1	0	0	8	16	0
Oxitetraciclina	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	41	0	0	>32	>32	<u>89,1</u>
Cloramfenicol	0	0	0	0	0	0	2	7	0	0	1	36	0	>64	>64	<u>80,4</u>
Florfenicol	0	0	0	0	0	0	2	6	38	0	0	0	0	>8	>8	<u>95,7</u>
Ácido Nalidixico	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	25	18	0	64	128	<u>93,5</u>
Ciprofloxacina	3	2	2	22	4	0	2	10	1	0	0	0	0	0,5	8	<u>37,0</u>
Marbofloxacina	3	2	2	20	6	0	1	12	0	0	0	0	0	0,5	8	28,3
Gentamicina	0	0	0	23	4	1	1	1	9	5	2	0	0	0,5	32	<u>34,8</u>
Neomicina	0	0	0	0	0	0	43	0	0	3	0	0	0	4	4	6,5
Azitromicina	0	0	0	0	0	0	5	20	8	3	2	8	0	8	>64	28,3
Colistina	0	0	0	0	1	27	15	3	0	0	0	0	0	2	4	<u>39,1</u>

CIM (µg/ml)	≤256	512	1024	>1024	CIM*50 (µg/mL)	CIM*90 (µg/mL)	Res %
Sulfadimetoxina	18	0	0	28	>1024	>1024	<u>60,9</u>
CIM (µg/ml)	≤2/38	4/76	>4/76		CIM*50 (µg/mL)	CIM*90 (µg/mL)	Res %
Sulfa/trimetoprim	35	0	11		≤2/38	>4/76	23,9

**Tabela 4** – Distribuição de estirpes resistentes aos antimicrobianos testados de acordo com o sorotipo identificado e ano de isolamento.

ANO	SOROTIPOS	Total	RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS* (N%)															
			TIO	AUG	AMP	OXI	CLO	FFN	NAL	CIP	MAR	GEN	NEO	AZI	COL	SUL	STX	
2012	Anatum	4	0	0	0	0	0	2(50)	0	0	0	0	1(25)	2(50)	1(25)	1(25)	0	
	Brandenburg	2	0	0	0	1 (50)	0	2(100)	2(100)	1(50)	0	0	0	1(50)	0	2(100)	0	
	Derby	8	0	0	0	7 (87,5)	0	3(37,5)	0	0	0	0	0	3(37,5)	0	7(87,5)	1(12,5)	
	I 4,[5],12:i:-	24	0	18 (75)	22(91,6)	21(87,5)	1 (4,2)	10(41,7)	24(100)	2(8,3)	0	19(79,2)	2(8,3)	2(8,3)	13(54,2)	19(79,2)	2(8,3)	
	London	6	0	0	0	0	0	3(50)	0	0	0	0	0	0	2(33,3)	4(66,7)	0	
	Molade	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Panama	13	0	4 (30,7)	6 (43,1)	1 (7,69)	0	5(38,5)	8(61,5)	1(7,7)	0	0	0	2(15,4)	7(53,8)	2(15,4)	0	
	Schwarzengrund	1	0	0	0	1(100)	1(100)	1(100)	0	0	0	0	0	0	0	1(100)	1(100)	
	Typhimurium	86	4(4,65)	37 (43)	51 (51)	46 (53,5)	42(48,8)	81(94,2)	84(97,7)	35(40,7)	26(30,2)	24(27,9)	4(4,65)	17(19,8)	24(27,9)	58(67,4)	6(7,0)	
2020	Anatum	3	0	0	0	0	0	2(66,7)	2(66,7)	0	0	0	0	1(33,3)	0	0	0	
	Brandenburg	1	0	0	0	1(100)	1(100)	1(100)	1(100)	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Derby	7	0	7(100)	7(100)	7(100)	7(100)	7(100)	7(100)	1(14,3)	0	0	0	0	0	0	0	
	I 4,[5],12:i:-	6	0	5(83,3)	5(83,3)	5(83,3)	1(16,7)	5(83,3)	5(83,3)	1(16,7)	0	5(83,3)	1(16,7)	0	5(83,3)	5(83,3)	0	
	London	4	0	3(75)	4(100)	4(100)	4(100)	4(100)	4(100)	0	0	0	0	0	3(75)	0	0	
	Schwarzengrund	1	0	0	0	0	0	1(100)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Typhimurium	24	9(37,5)	24(100)	24(100)	24(100)	24(100)	24(100)	24(100)	15(62,5)	13(54,2)	11(45,8)	2(8,3)	12(50)	10(41,7)	23(95,8)	11(45,8)	

\*A identificação dos antimicrobianos segundo a sigla é descrita no quadro 4. Não foram incluídos na tabela os antimicrobianos FOS e MERO, pois não foram identificadas estirpes resistentes.

Na tabela 4, podemos observar que os sorotipos com maiores taxas de resistência a antimicrobianos, foram também os mais frequentemente isolados. Em 2012 as estirpes com maior taxa de isolamento e resistência foram dos sorotipos Typhimurium, I4,[5],12:i:-, Panama e Derby. Em 2020 as estirpes mais frequentes e resistentes pertenciam aos sorotipos Typhimurium, Derby, I4,[5],12:i:- e London.

Foi possível observar um aumento na frequência de resistência a maioria dos antimicrobianos testados. No grupo de isolados de 2020, 91,3% (n=42/46) das estirpes foram resistentes a múltiplas drogas (Tabela 5), e nos isolados de 2012 essa frequência caiu para 80% (116/145).

**Tabela 5** - Distribuição das estirpes estudadas conforme ano de isolamento e a ocorrência de multirresistência aos antimicrobianos.

<b>Perfil de resistência</b>	<b>2012</b>	<b>2020</b>	<b>Total</b>
<b>≤ 2 classes</b>	29	4	33
<b>3 - 4 classes</b>	39	2	41
<b>≥ 5 classes</b>	77	40	117
<b>Total</b>	145	46	191
<b>% MDR</b>	80,0	91,3	82,7

No ano de 2012, apenas uma estirpe do sorotipo Molade não apresentou resistência a nenhum antimicrobiano testado. Em contrapartida, 24 estirpes do sorotipo I4,[5],12:i:- apresentaram 100% de multirresistência. No ano de 2020, estirpes dos sorotipos Typhimurium, Derby, London apresentaram 100% dos isolados multirresistentes (Tabela 6).

**Tabela 6** – Distribuição de estirpes multirresistentes de acordo com os sorotipos e ano de isolamento.

<b>Ano</b>	<b>Sorotipos</b>	<b>N</b>	<b>≤ 3 classes</b>	<b>≥ 3 classes</b>	<b>% MDR</b>
<b>2012</b>	Anatum	4	3	1	25
	Brandenburg	2	0	2	100
	Derby	8	2	6	75
	I 4,[5],12:i:-	24	0	24	100
	London	6	5	1	16,7
	Molade	1	1	0	0
	Panama	13	6	7	53,8
	Schwarzengrund	1	0	1	100
	Typhimurium	86	12	74	86,1
<b>2020</b>	Anatum	3	2	1	33,3
	Brandenburg	1	0	1	100
	Derby	7	0	7	100
	I 4,[5],12:i:-	6	1	5	83,3
	London	4	0	4	100
	Schwarzengrund	1	1	0	0
	Typhimurium	24	0	24	100

## 5. DISCUSSÃO

Foram avaliadas 145 estirpes (32,2%) de *Salmonella enterica* isoladas no ano de 2012, e 46 estirpes (10,2%) isoladas em 2020 provenientes do mesmo sistema integrado de produção. A frequência de isolamento no ano 2012 foi maior nos animais de creche (67,3%), seguido pelas fêmeas (16%) e depois animais de crescimento e terminação (13,3%). Já no ano de 2020, o maior percentual de isolamento foi nos animais em fase de crescimento/terminação com 18%, seguido pelas fêmeas com 10,7% e depois os leitões de creche com apenas 2%. Esses percentuais de isolamento podem ser comparados com o descrito por Niemann *et al.* (2015) na Alemanha, onde foram avaliadas cinco granjas de suínos nas fases de gestação, desmame e terminação. Os autores obtiveram 22,3% das amostras (n=1276) positivas, sendo de 9,9% para amostras de fêmeas lactantes, 27,2% na fase de creche e 26,1% na fase de terminação. No Brasil, Menin *et al.* (2008) isolaram *Salmonella* spp. em 7,3% (24/330) dos animais de creche e 10,9% (42/386) dos leitões da fase de terminação, relatando um aumento de animais positivos em fases mais tardias, como foi observado no ano 2020 do presente estudo. Com objetivo de investigar a prevalência de *Salmonella* em duas cidades da Alemanha, Wilkins *et al.* (2010), encontraram 36% (407/1143) de positividade no total de amostras, sendo 43% de positividade em amostras de fêmeas, 29% de positividade em animais de creche e 28% de positividade em suínos em fase de crescimento.

Lurette *et al.* (2008) descrevem que a prevalência de *Salmonella* em porcas é geralmente inferior a 10%. No presente estudo as taxas de isolamento foram 16% e 10,7% no ano 2012 e 2020, respectivamente. Em um estudo longitudinal realizado em granjas comerciais irlandesas, a maioria das fêmeas reprodutoras foram positivas para *Salmonella* em apenas uma ocasião (LYNCH *et al.* 2018), indicando a natureza intermitente da excreção de *Salmonella* em suínos infectados subclínicamente, isso está de acordo com os resultados de Funk, Davies e Nichols (2001) e os de Kranker *et al.* (2003).

A alta porcentagem de isolamento de *Salmonella* na creche no ano de 2012 no sistema de integração avaliado, pode ter sido desencadeada pelo estresse do desmame. Vários estudos descrevem que esse período é um momento crítico e de maior desafio para os animais, pois enfrentam a separação da mãe, mudança na alimentação, estresse do transporte, mistura de lotes, formação de nova hierarquia, adaptação ao novo ambiente e ao manejo. Patterson *et al.* (2016) descrevem que situações de estresse específicas fazem com que *S. enterica* seja excretada nas fezes. Em seu estudo concluíram que o estresse associado à retirada de alimentos e ao transporte são suficientes para fazer com que os animais voltassem a eliminar o agente. A exposição a novos sorovares de *Salmonella* durante o transporte ou no ambiente

da creche, além do estresse do desmame, pode levar a um rápido aumento da prevalência de *Salmonella* na creche, conforme relatado por Kranker et al. (2003). Para Nollet et al. (2005) a mudança de lotes e instalações é um importante gatilho para induzir a excreção de *Salmonella*. Isso está de acordo com o estudo de Ainslie-Garcia et al. (2018), no qual foi investigada a excreção fecal de *Salmonella* em diferentes estágios de produção, observando-se um percentual menor de animais positivos com 1-4 dias de idade (4,9%) quando comparado com leitões ao desmame (10,5%).

Considerando a distribuição dos sorotipos de acordo com a idade dos animais, pode-se verificar que há maior diversidade de sorotipos nas fêmeas adultas em 2012 (6) e em 2020 (6). A variedade de sorotipos isolados em animais de creche é menor em 2020 (3) que 2012 (8), sendo que em animais de crescimento-terminação apenas dois sorotipos estão presentes em 2020 e três em 2012. A redução da diversidade de sorotipos considerando os isolados das fêmeas, animais de creche e terminação, é um ponto bastante interessante. Para vários patógenos considera-se que as mães são as principais responsáveis pela colonização dos leitões, no entanto, poucos sorotipos que circulam nessa categoria persistem nos leitões de creche e principalmente nos terminados, que serão potenciais fontes de infecção humana, pelo risco de contaminação da carne.

Nollet et al. (2005), não conseguiram confirmar a transmissão direta de *Salmonella* das porcas para seus leitões, mas as semelhanças entre os isolados encontrados nas porcas e os encontrados durante os períodos de creche e terminação e no abate sugeriram transmissão indireta. No estudo de Parada et al. (2013), foi observado que *S. Schwarzengrund* foi responsável pela infecção nas fêmeas, enquanto *S. Derby* foi o único sorotipo presente em suínos em terminação. De acordo com o perfil sorológico da prole, embora alguns leitões tenham sido soropositivos, nenhum animal do estudo foi positivo entre 35 e 90 dias de idade, sugerindo que a infecção do leitão não se deu na maternidade.

No trabalho de Lynch et al. (2018) a sorotipagem e perfis de resistência de isolados de *Salmonella* revelaram que as estirpes isoladas de porcas e marrãs foram diferentes das estirpes isoladas em animais de creche e terminação. A tipagem confirmou que a fonte de infecção em leitões foi, na maioria dos casos, o ambiente contaminado e não a mãe. Com base nesses resultados, os autores concluíram que as fêmeas não representam um grande risco na manutenção e transmissão de *Salmonella* para sua progênie, mas o ambiente da baia contaminado foi mais significativo na perpetuação do organismo nas granjas.

Kranker et al. (2003) mostra que a ocorrência de *Salmonella* varia entre as faixas etárias e dentro da mesma faixa etária, mesmo em rebanhos com nível de infecção moderado a alto. Esses autores descrevem que *Salmonella* foi isolada com maior frequência em leitões

desmamados, e das fases de crescimento e terminação, sendo detectada ocasionalmente em porcas e marrãs. Os autores também sugerem que em rebanhos infectados subclínicamente, as porcas desempenham um papel menos importante na transmissão de *Salmonella*.

Considerando a frequência geral dos sorotipos identificadas nesse estudo, é possível identificar semelhança ao descrito em vários estudos nacionais ou internacionais. Hong *et al.* (2016) avaliaram 2.513 estirpes de *Salmonella enterica* isoladas de suínos entre os anos de 2006 e 2015 em Minnesota (EUA), e identificaram 79 sorotipos diferentes, sendo os mais prevalentes *S. Typhimurium* (28,2%), *S. Agona* (14,7%) e *S. Derby* (12,1%).

Dorr *et al.* (2009) avaliando rebanhos suínos dos Estados Unidos, em idade de creche, observaram que os sorotipos mais comuns foram Typhimurium (n = 46/96) e Derby (n = 32/96). Já no estudo de Su *et al.* (2018) na China, de um total de 104 isolados de amostras derivadas de diarreia obtidas em 66 fazendas de 2014 a 2016, os quatro sorotipos mais frequentes foram: *S. 4,[5],12:i:-* (53,9%), Typhimurium (17,3%), London (10,6%) e Derby (7,69%). Em estudo conduzido nos Estados Unidos por Keelara *et al.* (2013), a partir de 189 estirpes isoladas de suínos os sorotipos mais frequentes foram Typhimurium (28,5%), Infantis (16,4%) e Anatum (15,8%).

No estudo de Rajić *et al.* (2005) a fim de determinar a prevalência de *Salmonella* em 90 granjas de suínos em terminação de Alberta (Canadá), 22 sorotipos foram detectados em 60 fazendas positivas, sendo que os mais comuns foram Typhimurium (78 isolados), Derby (71 isolados) e, Infantis (47 isolados). No estudo temporal feito por Guerin *et al.* (2005) também no Canadá, foram avaliados 108 isolados de suínos entre outubro de 1990 e dezembro de 2001, e os sorotipos mais frequentes foram Typhimurium (41/108), Derby (11/108) e Infantis (7/108).

Em estudo realizado na Espanha por García-Feliz *et al.* (2008) foram avaliadas 186 granjas de terminação, com isolamento de 290 estirpes de *Salmonella*. Os isolados foram classificados em 24 sorotipos, sendo Typhimurium o mais frequente (31,4%), seguido de Rissen (24%) e Derby (16%).

Kich *et al.* (2011) determinaram a distribuição de *Salmonella* em rebanhos de terminação de suínos no sul do Brasil, avaliando 1.258 amostras de doze rebanhos de terminação e de animais no matadouro, observaram que dentre 178 amostras de fezes 87 foram positivas, e os sorotipos encontrados foram: Typhimurium, Panamá, Derby e Houtenae. Considerando-se os estudos descritos que envolvem o isolamento de *Salmonella* em animais de terminação, é possível observar que o sorotipo Typhimurium, comum aos isolados do presente estudo, certamente é o sorotipo mais reportado a partir do hospedeiro suíno.

Os sorotipos que persistiram no presente estudo até a fase de terminação foram, em ambos os períodos avaliados, Typhimurium e *S. enterica* I4,[5],12:i:-. A persistência desses sorotipos nessa faixa etária está certamente relacionada a maior resistência dos mesmos a antimicrobianos, no entanto, outros fatores relacionados a adaptação desses sorotipos ao hospedeiro são cruciais para que eles possam se manter nos animais carreadores.

Várias técnicas moleculares têm sido utilizadas na tipagem de amostras bacterianas, e embora a PFGE tenha sido considerada técnica “padrão ouro” para genotipagem de patógenos por muitos anos, o SE-AFLP apresenta as vantagens de ser mais rápido, economicamente viável e menos sujeita a falhas e repetições. Em estudo realizado nos Estados Unidos com isolados de *S. Typhimurium* o AFLP apresentou o maior índice discriminatório, sem diferença perceptível na reprodutibilidade e tendo a vantagem do alto rendimento e resolução (GEBREYES; ALTIER; THAKUR, 2006). Em outro estudo, com o intuito de determinar a capacidade do AFLP para diferenciar isolados de *Salmonella* de diferentes unidades de produção de suínos, os autores concluem que entre os três métodos de tipagem testados (sorotipagem, MLST e AFLP), o AFLP foi o método com melhor resultado para diferenciar entre isolados de *Salmonella* de diferentes fazendas e vincular a contaminação do abatedouro à fazenda de origem (WANG *et al.*, 2011).

Analisando o agrupamento das estirpes isoladas em 2012 e 2020 no presente estudo, não foi possível identificar tendência de agrupamento de acordo com o ano de isolamento. Foi possível observar a tendência em agrupar as amostras de acordo com a fase de produção e o sorotipo. Avaliando os perfis dos isolados foi possível observar que os grupamentos foram compostos, em sua grande maioria, por estirpes do mesmo sorotipo e provenientes de mais de uma granja, o que sugere uma maior tendência de agrupamento dentro dos sorotipos e menor discriminação de subtipos entre as propriedades.

Apesar de não termos avaliado dados de manejo específicos para as granjas incluídas neste estudo, é sabido que sendo um sistema de integração, há mistura de suínos de diferentes origens (diferentes produtores de leitões) em um grande crechário e a redistribuição dos animais para os terminadores. Esse sistema é relativamente comum atualmente, o que explica a presença dos sorotipos e genótipos semelhantes em diferentes unidades de crescimento e terminação.

Embora se reconheça que a *Salmonella* tenha um impacto significativo na infecção em humanos, e que o sorotipo Typhimurium seja o mais comum encontrado em vários estudos epidemiológicos realizados com estirpes de origem humana, essa não é a única grande preocupação atualmente. O uso excessivo de antimicrobianos na prevenção e controle de doenças em animais de produção tem levado a seleção e disseminação de genes de resistência

em enterobactérias que podem alcançar os seres humanos via alimentos, ambiente ou contato direto com os animais (THAI *et al.* 2012; DOMÉNECH *et al.* 2015).

De acordo com Viola e Devinent (2006), as principais formas de uso de antimicrobianos em suínos, são: (A) uso terapêutico, para tratamento de doenças; (B) uso profilático, visando prevenir doenças específicas em fases singulares de produção; (C) uso metafilático, para tratar uma grande quantidade de animais, quando uma parcela considerável do rebanho apresenta doença, e (D) como promotor de crescimento, fornecendo doses subterapêuticas de agentes antimicrobianos, principalmente por meio de ração. Desde os anos 90, tem ocorrido um forte aumento na resistência da *Salmonella enterica* aos antimicrobianos (THRELFALL *et al.*, 2000). Esse fato tem sido relacionado ao uso destes ativos como promotores de crescimento, na prevenção e terapêutica de animais destinados à produção de alimentos. Mais de 90% dos animais nas fases de creche e recria-terminação são expostos à antimicrobianos, conforme estudos americanos e canadenses (DECKERT *et al.*, 2010; USDA, 2007). Dutra *et al.* (2021), relatam que em 25 granjas produtoras de suínos avaliadas no Brasil, o tempo médio de exposição dos animais a antimicrobianos como promotor de crescimento ou profilático, foi de 73,7% considerando o período do nascimento ao abate.

Na medicina veterinária, os volumes de antimicrobianos consumidos, já ultrapassam o que é administrado a humanos, por isso, muito têm se discutido sobre o uso desses compostos que são atribuídos à produção animal sendo um fator seletivo e de persistência de estirpes resistentes (AARESTRUP, 2012; PHILLIPS *et al.*, 2004). Em 2014, o consumo global médio de antimicrobianos foi estimado em 172 mg ATM/ kg suíno produzido (VAN BOECKEL *et al.*, 2015). Dutra *et al.* (2021), relatam um consumo médio de 358.4 mg ATM/kg suíno produzido ao analisar granjas em diferentes Estados do Brasil.

Nos Estados Unidos, cerca de 11 milhões de kg de antimicrobianos são comercializados para produção animal (UCS, 2001). De um consumo de 2.000 toneladas em 2013 na Alemanha, 1.700 toneladas foram utilizadas na população animal, sendo 33,0% de tetraciclinas e 29,0% de penicilinas (MEYER *et al.*, 2013). Levantamento semelhante foi relatado no Canadá em 2014, e um consumo aproximado de 1.740 toneladas, onde 1.500 toneladas referem-se à produção animal, onde os principais grupos de antimicrobianos usados foram as tetraciclinas,  $\beta$ -lactâmicos, macrolídeos e lincosamidas (CANADA, 2017).

Em estudo feito na China com 110 isolados de *Salmonella enterica* de suínos doentes comparando os dados com uma coleção de 18.280 isolados obtidos de humanos, os autores concluíram que os isolados de suínos e humanos apresentaram padrões de resistência muito semelhantes e cepas de *Salmonella* que causaram infecção grave em suínos também foram capazes de causar infecções em humanos (KUO *et al.*, 2014).

No Brasil, não há registros do volume de antimicrobianos usados para essa finalidade; porém sabe-se que o uso de fluoroquinolonas, macrolídeos, tetraciclina, sulfonamidas e  $\beta$ -lactâmicos é comum na produção animal (REGITANO; LEAL, 2010), levando ao aumento das taxas de resistência a esses antimicrobianos em enterobactérias isoladas do ciclo de produção agropecuária. Em 25 granjas de suínos avaliadas nos anos de 2016 e 2017, os antimicrobianos mais utilizados foram amoxicilina (100%), seguida por tiamulina (88%), doxiciclina (72%), florfenicol (68%) e colistina (52%) (DUTRA *et al.*, 2011).

No presente estudo as classes com as maiores taxas de resistência, principalmente no grupo de estirpes mais recentes foram os  $\beta$ -Lactâmicos, quinolonas, tetraciclina, fenicóis, sulfonamidas e polimixinas, o que está de acordo com o uso descrito previamente no país. Além disso, dentre os antimicrobianos testados no presente estudo (n=17), pode se observar que 14 ativos tiveram aumento nas taxas de resistência comparando o ano de 2012 e o ano de 2020. Este dado é alarmante, pois reflete o aumento no uso de antimicrobianos em animais de produção, sendo mais preocupante ainda, em razão da possibilidade de resistência cruzada com antimicrobianos usados em humanos e/ou transferência de genes de resistência entre a população animal e humana (FERNANDES, 2009; VAZ *et al.*, 2010).

No estudo de Teng *et al.* (2022) realizado com 1.318 isolados de *Salmonella* do ano 2013 a 2017 na Espanha, foi possível observar um aumento significativo na porcentagem dos isolados resistentes ao cloranfenicol, sulfametoxazol, ampicilina e trimetoprim. Na revisão sistemática de Rodrigues *et al.* (2020), sobre os perfis fenotípicos de resistência antimicrobiana em isolados de *Salmonella* de origem humana e suína entre os anos de 1990 e 2018 no Brasil, foi possível observar que os isolados de *Salmonella* de fontes suínas apresentaram as maiores taxas de resistência para tetraciclina (20,3%) e sulfonamidas (17,4%).

Gebreyes, Thakur e Morgan (2006) em um estudo realizado na Carolina do Norte (Estados Unidos) comparando a resistência antimicrobiana de estirpes de *Salmonella* isoladas de sistemas de produção livres de antimicrobianos e convencionais, observaram maior percentual de resistência à tetraciclina (80%) seguida pela estreptomicina (43,4%) e sulfametoxazol (36%) nas amostras testadas. A frequência de resistência à maioria das classes de antimicrobianos (exceto tetraciclina) foi significativamente maior entre fazendas convencionais do que fazendas livres de antimicrobianos.

Weiss *et al.* (2002) avaliando estirpes de *Salmonella* isoladas de amostras de fezes de suínos em granjas terminadoras sul do Brasil, observaram altas taxas de resistência à sulfonamida (97,8%) e estreptomicina (82,6%). No estudo de Menin *et al.* (2008) em fase de

creche e terminação, as amostras apresentaram maior resistência à oxitetraciclina (77%), tetraciclina (42,1%) e menor à gentamicina (3,5%) e amoxicilina (4,8%).

No presente estudo foi observado um aumento na resistência da tetraciclina de 53,1% no ano 2012 para 89,1% no ano de 2020. As tetraciclinas são um dos mais antigos antimicrobianos usados tanto para tratamento e para promoção de crescimento em animais. No entanto, no Brasil, a tetraciclina foi proibida como promotor de crescimento em rações animais em 1998, sendo liberada atualmente apenas para uso terapêutico (LIMA *et al.*, 2016).

O uso de cloranfenicol em animais no Brasil foi proibido em 2003 pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 2003), e desde então é permitido apenas o uso de florfenicol, seu análogo fluorado. Deste modo, tal princípio ativo segue sendo responsável por causar alta pressão de resistência frente a essa classe de antimicrobianos. No presente estudo foram encontradas altas porcentagens de resistência a esta classe. Foi observado 30,3% das estirpes resistentes a cloranfenicol em 2012, passando para 80,4% em 2020. Nesse período a resistência ao florfenicol, passou de 33,1% para 95,7%. Esses resultados são similares ao descrito por Meneguzzi *et al.* (2017), que avaliaram 111 estirpes de *Salmonella* de nove estados brasileiros e observaram 74,7% de resistência ao florfenicol.

Desde 2016, a colistina teve o uso proibido no Brasil como promotor de crescimento (BRASIL, 2016), no entanto, antes da proibição seu uso foi realizado de forma intensiva. Este fato pode ter contribuído para o aumento nas taxas de resistência de 2012 para 2020 (de 32,4 para 39,1) e para os altos níveis de resistência observados em alguns sorotipos como I 4,[5],12:i:- (83,3%).

No estudo de Pissetti *et al.* (2022), dados obtidos ao longo de 16 anos na cadeia produtiva de suínos do sul do Brasil em 278 isolados de *Salmonella* sorotipo Derby e Typhimurium, os autores detectaram um elevado número de cepas com resistência a colistina. No presente estudo, em ambos os anos, *S. Derby* foi sensível a colistina, porém *S. Typhimurium* apresentou aumento na resistência do ano 2012 (27,9%) para o ano de 2020 (41,7%).

Observamos um aumento da CIM para ciprofloxacina no sorotipo Typhimurium, entre os anos 2012 (40,7%) e 2020 (62,5%). A resistência relatada de *Salmonella* contra ciprofloxacina na suinocultura brasileira é alta (PAIM *et al.*, 2019; VIANA *et al.*, 2019; GOMES *et al.*, 2022). Tanto a enrofloxacin quanto a ciprofloxacina são utilizadas em suínos para fins terapêuticos e profiláticos (SATO *et al.*, 2022). Do ponto de vista da vigilância, esse aumento pode ser um alerta para os gestores de risco sobre uma possível deterioração da situação de um importante antimicrobiano para animais e humanos.

As quinolonas estão entre as primeiras escolhas de drogas para tratar a sepse por Gram-negativos em humanos e o surgimento de *Salmonella* resistente a quinolonas tem sido descrito em vários relatos (THRELFALL *et al.*, 1997; MOLBAK *et al.*, 1999; MATEU *et al.*, 2002). No presente estudo observou-se altas porcentagens de resistência a quinolonas, principalmente frente ao ácido nalidixico que apresentou 93,5% de resistência em 2020 e 81,4% em 2012.

Já foi demonstrado que a transmissão de genes de resistência entre as bactérias que colonizam o intestino humano é possível (TROBOS *et al.*, 2008). Suínos e outros animais de produção são reconhecidos como reservatório primário de bactérias multirresistentes (WEDEL *et al.*, 2005). Conforme relatado pelo National Antimicrobial Resistance Monitoring System, cerca de 20% de *Salmonella* de suínos são multirresistentes (resistentes a  $\geq 3$  classes de antimicrobianos) nos EUA (USDA, 2019).

A criação intensiva de animais é um meio considerado extremamente propício para a transferência dos genes codificadores de resistência, visto que há abundância de espécies bacterianas circulando, alta densidade de animais aliados à pressão seletiva exercida pelos antimicrobianos. No presente estudo foi observado um aumento na frequência de resistência do ano 2012 (80%) para o grupo isolado em 2020 em que 91,3% (n=42/46) das estirpes foram resistentes a múltiplas drogas (MDR).

Keelara *et al.* (2013), estudando sistemas de produção livres de antimicrobianos (ABF) e convencionais nos EUA, detectaram multirresistência em 27% dos isolados de *Salmonella* do sistema convencional. Na China, Su *et al.* (2018) observaram em seu estudo que 70,2% dos isolados apresentaram graus variados de multirresistência. Altos níveis também foram encontrados por Porter *et al.* (2020) no Reino Unido, onde os isolados de *S. Typhimurium* tiveram 72,5% de multirresistência. Na Espanha, a ocorrência de multirresistência foi um achado comum no estudo de García-Feliz *et al.* (2008), 77% dos isolados *S. Typhimurium* em animais aparentemente saudáveis e 95,6% dos isolados de animais doentes foram multirresistentes, respectivamente. No entanto, no estudo espanhol, outros sorovares prevalentes apresentaram altas frequências de multirresistência. No total, foram encontrados isolados multirresistentes em 11 sorovares diferentes, indicando que o problema não está exclusivamente associado a *S. Typhimurium*.

O desenvolvimento de multirresistência entre bactérias patogênicas emergiu como uma grande preocupação de saúde pública. O uso indiscriminado de antimicrobianos, tanto na medicina humana quanto na veterinária, para fins terapêuticos, profiláticos e promotores de crescimento, vem potencializando a ocorrência de multirresistência. Quando os patógenos apresentam resistência a vários antimicrobianos de uso clínico em humanos, há um alto risco

de falha nos tratamentos e um aumento na severidade das infecções, isso leva a um aumento tanto da mortalidade como dos gastos do sistema de saúde (DOMÉNECH *et al.*, 2015).

Pesquisas enfatizando o conhecimento e desenvolvimento de alternativas à antimicrobianos, tais como: óleos essenciais, enzimas, ácidos orgânicos, prebióticos e probióticos, com a finalidade de assegurar avanços na suinocultura, têm surgido nos últimos anos (CHENG *et al.* 2019, SUBRAMANIAM; KIM, 2015; OMONIJO *et al.*, 2018). Dessa forma, espera-se que tais alternativas sejam capazes de desencadear efeitos como: aumento da resposta imunológica, redução da carga de patógenos na microbiota intestinal, estimulação e estabelecimento de microrganismos intestinais benéficos e estimulação da função digestiva de suínos (DE LANGE *et al.*, 2010).

## 6. CONCLUSÕES

- *Salmonella enterica* apresentou uma alta circulação entre as granjas avaliadas, tendo sido observada a redução nas taxas de isolamento de 2012 a 2020;
- Apesar da redução das taxas de isolamento, os níveis de resistência a maioria dos antimicrobianos testados aumentou de 2012 para 2020;
- Todas as estirpes foram caracterizadas pelo SE-AFLP, com uma tendência a agrupar os isolados de acordo com o sorotipo e as fases de produção;
- Os sorotipos identificados e os ST revelaram o predomínio dos sorotipos Typhimurium e I4,[5],12:i:- em ambos os anos avaliados;
- Os sorotipos identificados nas fêmeas (porcas) não foram os mesmos identificados nas fases de creche e crescimento/terminação;
- Considerando os altos índices de resistência identificados nos sorotipos Typhimurium e I4,[5],12:i:- é possível concluir que esse é um dos fatores que favorece sua persistência nos animais avaliados.

## 7. REFERÊNCIAS

- AARESTRUP, F. Get pigs off antibiotics. **Nature**, v. 486, n. 7404, p. 465-466, 2012.
- ABPA - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL (São Paulo). Relatório Anual 2022. Disponível em: < <https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2022/05/Relatorio-Anual-ABPA-2022-vf.pdf> >. Acesso em: 14 jun. de 2022.
- AINSLIE-GARCIA M. *et al.* *Salmonella* in pigs from weaning to slaughter. *In: International Conference on the Epidemiology and Control of Foodborne Pathogens and Antimicrobial Resistance in Pigs and Pork (SafePork)*, p. 112-113, 2019.
- AMARAL, A. L. *et al.* Boas práticas de produção de suínos. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2006. 60 p. (**Circular Técnica**, 50). Disponível em: < [http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc\\_publicacoes/publicacao\\_k5u59t7m.pdf](http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc_publicacoes/publicacao_k5u59t7m.pdf) >. Acesso em: 19 fev. 2021.
- ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução RDC nº 12**, de 02 de janeiro de 2001. Disponível em: < <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/resolucao-rdc-no-12-de-2-de-janeiro-de-2001.pdf> >. Acesso em: 28 jun. 2022.
- ARGUELLO, H. *et al.* Prevalence and serovars of *Salmonella enterica* on pig carcasses, slaughtered pigs and the environment of four Spanish slaughterhouses. **Food Research International**, v. 45, n. 2, p. 905-912, 2012.
- ASHTON, P.M. *et al.* Identification of *Salmonella* for public health surveillance using whole genome sequencing. **PeerJ**, v. 4, p. e1752, 2016.
- AUTHORITY, E. F. S. *et al.* The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016. **EFSA journal**, v. 15, n. 12, 2017.
- BAHNSON, P. B *et al.* Herd-level risk factors for *Salmonella enterica* subsp. *enterica* in US market pigs. **Preventive veterinary medicine**, v. 76, n. 3-4, p. 249-262, 2006.
- BALE, J. *et al.* Characterization of new *Salmonella* serovars by whole-genome sequencing and traditional typing techniques. **Journal of Medical Microbiology**, v. 65, n. 10, p. 1074-1078, 2016.
- BAPTISTA, F. M.; DAHL, J.; NIELSEN, L. R. Factors influencing *Salmonella* carcass prevalence in Danish pig abattoirs. **Preventive veterinary medicine**, v. 95, n. 3-4, p. 231-238, 2010.
- BARROS, V. R. M.; PAIVA, P. C.; PENETTA, J. C. *Salmonella* spp: sua transmissão através dos alimentos. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 16, n. 94, p. 15-19, 2002.
- BERSOT, L.S. **Disseminação de *Salmonella* na cadeia produtiva de suínos**. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Curso de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade de São Paulo. 2005. 90p.
- BESSA, M. C.; DA COSTA, M.; CARDOSO, M. Prevalência de *Salmonella* sp em suínos abatidos em frigoríficos do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 2004.

BOLTON, D. J.; IVORY, C.; MCDOWELL, D. A study of *Salmonella* in pigs from birth to carcass: serotypes, genotypes, antibiotic resistance and virulence profiles. **International journal of food microbiology**, v. 160, n. 3, p. 298-303, 2013.

BOOM, R. *et al.* Rapid and Simple Method for Purification of Nucleic Acids. **JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY**, v. 28, n. 3, p. 495–503, 1990.

BOTTELDOORN, N. *et al.* *Salmonella* on pig carcasses: Positive pigs and cross contamination in the slaughterhouse. **Journal of Applied Microbiology**, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa n.º 45 de 22 Novembro de 2016**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa n.º 9 de 27 de junho de 2003**. Proíbe a fabricação, a manipulação, o fracionamento, a comercialização, a importação e o uso dos princípios ativos cloranfenicol e nitrofuranos e os produtos que contenham estes princípios ativos, para uso veterinário e suscetível de emprego na alimentação de todos os animais e insetos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, Seção 1, p. 5, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Governo Federal. ***Salmonella* (Salmonelose): o que é, causas, tratamento e prevenção**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2019. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/ptbr/assuntos/saude-de-a-a-z/s/Salmonella-salmonelose>. Acesso em: 24 nov. de 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual técnico de diagnóstico laboratorial de *Salmonella* spp.: diagnóstico laboratorial do gênero**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual integrado de vigilância, prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos**. Brasília DF, 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dtha/arquivos/manual-doencas-transmitidas-por-alimentos.pdf/view>. Acessado em 29 jun. 2022.

BRENNER, F. W. *et al.* *Salmonella* nomenclature. **Journal of clinical microbiology**, v. 38, n. 7, p. 2465-2467, 2000.

BURCH, D.G.S. Controlling diarrhoea in growing pigs - the grey scour syndrome. **Pig Journal**, Inglaterra, v.45, p.131-149, 2000.

CAMPIONI, F. *et al.* Changing of the genomic pattern of *Salmonella* Enteritidis strains isolated in Brazil over a 48 year-period revealed by whole genome SNP analyses. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, p. 1-7, 2018.

CANADA. **Canadian Antimicrobial Resistance Surveillance System Report 2016**. (2017) Disponível em: <<https://www.canada.ca/en/public-health/services/publications/drugs-health-products/canadian-antimicrobial-resistance-surveillance-system-report-2016.html>>. Acessado em 01 jun. 2022.

CARDOSO, M. Doenças transmitidas por alimento de origem suína, Porto Alegre, RS. In: I SIMPÓSIO UFRG SOBRE MANEJO, REPRODUÇÃO E SANIDADE SUÍNA, 256., 2006, Porto Alegre. **Anais[...]** Porto Alegre: Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2006.

- CARDOSO, T. G.; CARVALHO, V. M. Foodborne disease caused by *Salmonella* spp. **Revista Instituto Ciência da Saúde**, v. 24, n. 2, p. 95-101, 2006.
- CARVALHO, P. L. C.; VIANA, E. F. Suinocultura SISCAL e SISCON: análise e comparação dos custos de produção. *Custos e Agronegócio Online*, v. 7, n. 3, set.-dez. 2011. Disponível em: <<http://www.custoseagronegocioonline.com.br/numero3v7/suinocultura.pdf>>. Acesso em: 19 fev. 2021.
- CASTAGNA, S. M. F.; SCHWARZ, P.; CANAL, C. W.; CARDOSO, M. R. I. Prevalência de suínos portadores de *Salmonella* sp. ao abate e contaminação de embutidos tipo frescal. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32, n. 2, p. 141-147, 2004.
- CASTAGNA, Sandra Maria Ferraz et al. Presença de *Salmonella* sp. no trato intestinal e em tonsilas/linfonodos submandibulares de suínos ao abate. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, p. 300-306, 2004b.
- CASTILLO, A. C. G.; MARTÍNEZ, L. H. P.; APODACA, N. L. C. Salmonellosis and campylobacteriosis the most prevalent zoonosis in the world. **Veterinária México**, v. 39, n. 1, p. 81-90, 2008.
- CDC - CENTER OF DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **An Atlas of Salmonella in the United States, 1968-2011**: Laboratory-based Enteric Disease Surveillance. Atlanta, USA. CDC, 2013.
- CDC - CENTER OF DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Antibiotic Resistance Threats in the United States 2019**. Atlanta, USA. CDC, 2019.
- CDC - CENTER OF DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Salmonella**. Atlanta, USA. CDC, 2022. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/Salmonella/>>. Acessado em: 30 jun. 2022.
- CHENG, D. *et al.* A critical review on antibiotics and hormones in swine wastewater: Water pollution problems and control approaches. **Journal of hazardous materials**, v. 387, p. 121682, 2020.
- CHIU, C.H. *et al.* *Salmonella enterica* Serotype Choleraesuis: epidemiology, pathogenesis, clinical disease, and treatment. **Clinical Microbiology Reviews**, v.17, n.2, p.311-322, 2004.
- CLSI - CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals; 5th ed. **CLSI supplement VET01S**. ISBN 978-1-68440-093-5 CLSI Institute, USA, 2020.
- CLARK, R.C; GYLES C.L. *Salmonella*. In: GYLES, C.L.; CHARLES, O.T. **Pathology Bacterial Infection Animal**. 2. ed. Ames: Iowa State University, p.133-153, 1993.
- DE PAIVA, J. B. *et al.* Isolamento de *Salmonella*: comparação das etapas de pré-enriquecimento e enriquecimento direto de amostras de fezes armazenadas por 24 e 96 horas. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 73, p. 263-269, 2006.
- DE SOUZA, R. B.; MAGNANI, M.; OLIVEIRA, T. C. R. M. Mechanisms of quinolone resistance in *Salmonella* spp. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 413-428, 2010.

DECKERT, A. *et al.* Canadian integrated program for antimicrobial resistance surveillance (CIPARS) farm program: results from finisher pig surveillance. **Zoonoses and public health**, v. 57, p. 71-84, 2010.

DE LANGE, C. F. M. *et al.* Strategic use of feed ingredients and feed additives to stimulate gut health and development in young pigs. **Livestock Science**, v. 134, n. 1-3, p. 124-134, 2010.

DICKSON, J.S.; HURD, H.S.; ROSTAGNO, M.H. *Salmonella* in the Pork Production Chain. **National Pork Board/American Meat Science Association Fact**, Iowa, EUA. 2008.

DOMÉNECH, E. *et al.* Prevalence and antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* strains isolated in ready-to-eat foods in Eastern Spain. **Food Control**, v. 47, p. 120-125, 2015.

DORR, P. M. *et al.* Longitudinal study of *Salmonella* dispersion and the role of environmental contamination in commercial swine production systems. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 75, n. 6, p. 1478-1486, 2009.

EFSA—European Food Safety Authority; ECDC—European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union One Health 2019 Zoonoses Report. **EFSA J.** 2021, 19, 6406.

DUTRA, M. C., MORENO, L. Z., DIAS, R. A., & MORENO, A. M. Antimicrobial Use in Brazilian Swine Herds: Assessment of Use and Reduction Examples. **Microorganisms**, 9(4), 881, 2021. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9040881>

EFSA—European Food Safety Authority; ECDC—European Centre for Disease Prevention and Control. Segundo relatório conjunto ECDC/EFSA/EMA sobre a análise integrada do consumo de agentes antimicrobianos e ocorrência de resistência antimicrobiana em bactérias de humanos e animais produtores de alimentos. **EFSA J.** 2017, 15, 4872.

FERNANDES, S. A. *et al.* CTX-M-2- producing *Salmonella* Typhimurium isolated from pediatric patients and poultry in Brazil. **Microbial Drug Resistance**, v. 15, n. 4, p. 317-321, 2009.

FINGER, J. A. *et al.* Overview of foodborne disease outbreaks in Brazil from 2000 to 2018. **Foods**, v. 8, n. 10, p. 434, 2019. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2304-8158/8/10/434>>. Acesso em: 20 junho de 2022. Doi: 10.3390/foods8100434.

FLINT, J. A. *et al.* Estimating the burden of acute gastroenteritis, foodborne disease, and pathogens commonly transmitted by food: an international review. **Clinical infectious diseases**, v. 41, n. 5, p. 698-704, 2005.

FUNK, J. A.; DAVIES, P. R.; NICHOLS, M. A. Longitudinal study of *Salmonella* enterica in growing pigs reared in multiple-site swine production systems. **Veterinary Microbiology**, v. 83, n. 1, p. 45-60, 2001.

GALLAND, J. C. *et al.* Prevalence of *Salmonella* in beef feeder steers as determined by bacterial culture and ELISA serology. **Veterinary microbiology**, v. 76, n. 2, p. 143-151, 2000.

- GARCÍA-FELIZ, C. *et al.* Antimicrobial resistance of *Salmonella enterica* isolates from apparently healthy and clinically ill finishing pigs in Spain. **Zoonoses and public health**, v. 55, n. 4, p. 195-205, 2008.
- GEBREYES, W. A.; THAKUR, S.; MORGAN M. W. E. Comparison of prevalence, antimicrobial resistance, and occurrence of multidrug-resistant *Salmonella* in antimicrobial-free and conventional pig production. **Journal of food protection**, v. 69, n. 4, p. 743-748, 2006.
- GEBREYES, W. A.; ALTIER, C.; THAKUR, S. Molecular epidemiology and diversity of *Salmonella* serovar Typhimurium in pigs using phenotypic and genotypic approaches. **Epidemiology & Infection**, v. 134, n. 1, p. 187-198, 2006.
- GERVÁSIO, E. W. **Suinocultura Paranaense**. Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento – SEAB; Departamento de Economia Rural-DERAL. [Curitiba?], 2016.
- GIAMMANCO, G. M. *et al.* Evaluation of a modified single-enzyme amplified fragment length polymorphism (SE-AFLP) technique for subtyping *Salmonella enterica* serotype Enteritidis. **Research in microbiology**, v. 158, n. 1, p. 10-17, 2007.
- GOMES, V. T.M. *et al.* Characterization of *Salmonella enterica* contamination in pork and poultry meat from São Paulo/Brazil: Serotypes, genotypes and antimicrobial resistance profiles. **Pathogens**, v. 11, n. 3, p. 358, 2022.
- GUERIN, M. T. *et al.* A temporal study of *Salmonella* serovars in animals in Alberta between 1990 and 2001. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 69, n. 2, p. 88, 2005.
- GUIBOURDENCHE, M. *et al.* Supplement 2003–2007 (No. 47) to the white-Kauffmann-Le minor scheme. **Research in microbiology**, v. 161, n. 1, p. 26-29, 2010.
- GUIMARÃES, D. *et al.* **Suinocultura: estrutura da cadeia produtiva, panorama do setor no Brasil e no mundo e o apoio do BNDES**. Agroindústria | BNDES Setorial 45, p. 85-136, 2017. Disponível em: <[https://web.bndes.gov.br/bib/jspui/bitstream/1408/11794/1/BS%2045%20Suinocultura%20-%20estrutura%20da%20cadeia%20produtiva%2C%20panorama%20do%20setor%20no%20Brasil%5B...%5D\\_P.pdf](https://web.bndes.gov.br/bib/jspui/bitstream/1408/11794/1/BS%2045%20Suinocultura%20-%20estrutura%20da%20cadeia%20produtiva%2C%20panorama%20do%20setor%20no%20Brasil%5B...%5D_P.pdf)>. Acesso em: 19 fev. 2021.
- HARRISON, O. L. *et al.* *Salmonella enterica* 4,[5], 12: i–, an Emerging Threat for the Swine Feed and Pork Production Industry. **Journal of food protection**, v. 85, n. 4, p. 660-663, 2022.
- HOLT, J. G; KRIEG, N. R.; SNEATH, P. H. A. **Bergey's manual of determinative bacteriology**. 9.ed. Baltimore : Williams & Wilkins, 1994. Cap.5: Facultative anaerobic Gram-negative rods: p.175-189.
- HONG, S. *et al.* Serotypes and antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* recovered from clinical samples from cattle and swine in Minnesota, 2006 to 2015. **PloS one**, v. 11, n. 12, p. e0168016, 2016.
- HUNT, M. L.; ADLER, B.; TOWNSEND, K. M. The molecular biology of *Pasteurella multocida*. **Veterinary Microbiology**, v. 72, n. , p. 3-25, 2000.
- IWU, C. J. *et al.* Multidrug-resistant *Salmonella* isolates from swine in the Eastern Cape province, South Africa. **Journal of food protection**, v. 79, n. 7, p. 1234-1239, 2016.

- JACKSON, P. G. G; COCKCROFT, P. D. **Handbook of pig medicine**. Elsevier Health Sciences, 2007.
- JACOBSON, M. *et al.* The prevalences of *Brachyspira* spp. and *Lawsonia intracellularis* in Swedish piglet producing herds and wild boar population. **Journal of Veterinary Medicine**, Blackwell Verlag, Berlin, v.52, p.386-391, 2005.
- KEELARA, S. *et al.* Longitudinal study of distributions of similar antimicrobial-resistant *Salmonella* serovars in pigs and their environment in two distinct swine production systems. **Applied and environmental microbiology**, v. 79, n. 17, p. 5167-5178, 2013.
- KICH, J. D. *et al.* Fatores associados à soroprevalência de *Salmonella* em rebanhos comerciais de suínos. **Ciência Rural**, v. 35, p. 398-405, 2005.
- KICH, J. D. *et al.* Prevalence, distribution, and molecular characterization of *Salmonella* recovered from swine finishing herds and a slaughter facility in Santa Catarina, Brazil. **International Journal of Food Microbiology**, v. 151, n. 3, p. 307-313, 2011.
- KICH, J. D.; CARDOSO, M. Salmonelose. In: SOBESTIANSKY, Y.; BARCELLOS, D. **Doenças dos suínos**. Goiânia: Canône Editorial, p. 257-264, 2012.
- KICH, J. D.; MENEGGUZZI, M., & REICHEN, C. Salmonelose clínica em suínos no Brasil: diagnóstico e controle. In: **Anais do 10º Simpósio Internacional de Suinocultura** (p. 153-166), 2017.
- KOTTWITZ, L. B. M. *et al.* Contaminação por *Salmonella* spp. em uma cadeia de produção de ovos de uma integração de postura comercial. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, p. 496-498, 2008.
- KRANKER, S. *et al.* Longitudinal study of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium infection in three Danish farrow-to-finish swine herds. **Journal of Clinical microbiology**, v. 41, n. 6, p. 2282-2288, 2003.
- KUO, H. C. *et al.* An association of genotypes and antimicrobial resistance patterns among *Salmonella* isolates from pigs and humans in Taiwan. **PloS one**, v. 9, n. 4, p. e95772, 2014.
- KUMAR, Y. *et al.* Distribution trends of *Salmonella* serovars in India (2001–2005). **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 103, n. 4, p. 390-394, 2009.
- LAN, R; REEVES, P. R. Amplified fragment length polymorphism analysis of *Salmonella enterica*. In: **Salmonella**. Humana Press, 2007. p. 119-132.
- LIMA, A. L. *et al.* Sorovares e perfil de suscetibilidade a antimicrobianos em *Salmonella* spp. isoladas de produtos de origem suína. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 68, p. 39-47, 2016.
- LURETTE, A. *et al.* Modelling *Salmonella* spread within a farrow-to-finish pig herd. **Veterinary Research**, v. 39, n. 5, p. 1, 2008.
- LYNCH, H. *et al.* *Salmonella* in breeding pigs: Shedding pattern, transmission of infection and the role of environmental contamination in Irish commercial farrow-to-finish herds. **Zoonoses and Public health**, v. 65, n. 1, p. e196-e206, 2018.

- MAJOWICZ, S. E. *et al.* The global burden of nontyphoidal *Salmonella* gastroenteritis. **Clinical infectious diseases**, v. 50, n. 6, p. 882-889, 2010.
- MANGMEE, S. *et al.* Tipagem por espectrometria de massa MALDI-TOF para sorovares predominantes de *Salmonella* não tifoide em uma indústria de frangos de corte tailandesa. **Food Control**, v. 113, p. 107188, 2020.
- MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil**. Brasil, 2018. Disponível em: <<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/julho/02/Apresentacao-Surtos-DTA-Junho-2018.pdf>>. Acesso em 20 de jun. 2022.
- MATEU, E. M. *et al.* Antimicrobial susceptibility of *Salmonella* strains isolated from swine in Catalonia, Spain. **Veterinary record**. 150.5: 147-150, 2002.
- MCLAUHLIN, J. *et al.* Amplified fragment length polymorphism (AFLP) analysis of *Clostridium perfringens* for epidemiological typing. **International Journal of Food Microbiology**, v. 56, n. 1, p. 21–28, 2000.
- MCORIST, S; GEBHART, C. J. Porcine proliferative enteropathies. *In*: STRAW, B.E. *et al.* (Eds.). **Diseases of Swine**. 8.ed. Ames, Iowa: Iowa State University, 1999. Cap.38, p.521-534.
- MELLOR, K. C. *et al.* Antimicrobial resistance diversity suggestive of distinct *Salmonella* Typhimurium sources or selective pressures in food-production animals. **Frontiers in Microbiology**, p. 708, 2019.
- MENDONÇA, E. P. **Características de virulência, resistência e diversidade genética de sorovares de *Salmonella* com impacto na saúde pública, isolados de frangos de corte no Brasil**. Tese de doutorado. Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, 2016.
- MENEGUZZI, M. *et al.* *Salmonella* clinical isolates from Brazilian pig herds: genetic relationship and antibiotic resistance profiling. *In*: **Embrapa Suínos e Aves-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. *In*: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE EPIDEMIOLOGY AND CONTROL OF BIOLOGICAL, CHEMICAL AND PHYSICAL HAZARDS IN PIG AND PORK, 12., 2017, Foz do Iguaçu. Proceedings book... Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2017. p. 170-174., 2017.
- MENESES-GONZÁLEZ, Y. E. Identification and Characterization of *Salmonella* Serotypes Isolated from Pork and Poultry from Commercial Sources. 2010.
- MENIN, A. *et al.* Agentes bacterianos enteropatogênicos em suínos de diferentes faixas etárias e perfil de resistência a antimicrobianos de cepas de *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. **Ciência Rural**, v. 38, p. 1687-1693, 2008.
- METHNER, U. *et al.* *Salmonella* status of pigs at slaughter—Bacteriological and serological analysis. **International journal of food microbiology**, v. 151, n. 1, p. 15-20, 2011.
- MEYER, E., GASTMEIER, P., DEJA, M., SCWAB, F. Antibiotic consumption and resistance: Data from Europe and Germany. **International Journal of Medical Microbiology**, 303: 388-395, 2013.

- MOLBAK, K. *et al.* An outbreak of multidrug-resistant, quinolone-resistant *Salmonella enterica* serotype Typhimurium DT104." **New England Journal of Medicine**. 341.19: 1420-1425, 1999.
- NAIR, S. *et al.* *Salmonella enterica* subspecies II infections in England and Wales—the use of multilocus sequence typing to assist serovar identification. **Journal of medical microbiology**, v. 63, n. 6, p. 831-834, 2014..
- NIELSEN, B. *et al.* The serological response to *Salmonella* serovars typhimurium and infantis in experimentally infected pigs. The time course followed with an indirect anti-LPS ELISA and bacteriological examinations. **Veterinary microbiology**, v. 47, n. 3-4, p. 205-218, 1995.
- NIEMANN, J. *et al.* Epidemiological analysis of the dynamic and diversity of *Salmonella* spp. in five German pig production clusters using pheno-and genotyping methods: an exploratory study. **Veterinary Microbiology**, v. 176, n. 1-2, p. 190-195, 2015.
- NOLLET, N. *et al.* Distribution of *Salmonella* strains in farrow-to-finish pig herds: a longitudinal study. **Journal of food protection**, v. 68, n. 10, p. 2012-2021, 2005.
- NWABOR, O. F., DICKSON, I. D., & AJIBO, Q. C. Epidemiology of *Salmonella* and salmonellosis. **International letters of natural sciences**, v. 47, 2015.
- OMS - Organização Mundial da Saúde. *Salmonella (não tifóide)*. 2018. Disponível em: <[https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal))> Acesso em 04 de jul. de 2022.
- OMONIJO, F. A. *et al.* Essential oils as alternatives to antibiotics in swine production. **Animal Nutrition**, v. 4, n. 2, p. 126-136, 2018.
- PAIM, D. S. *et al.* Enumeration, antimicrobial resistance and typing of *Salmonella enterica*: profile of strains carried in the intestinal contents of pigs at slaughter in southern Brazil. **Embrapa Suínos e Aves-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2019.
- PARADA, J. *et al.* *Salmonella* transmission from the gilt to her offspring. **Livestock Science**, v. 157, n. 2-3, p. 605-611, 2013.
- PATTERSON, S. K. *et al.* Towards an understanding of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium persistence in swine. **Animal health research reviews**, v. 17, n. 2, p. 159-168, 2016.
- PEARCE, G.P. Epidemiology of enteric diseases in growerfinisher pigs: a postal survey of pig producers in England. **Veterinary Record**, Inglaterra. v.27, n.144, p. 338-342, 1999.
- PERSAD, A. K. *et al.* Identification and Subtyping of *Salmonella* Isolates Using Matrix-Assisted Laser Desorption–Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF). **Microorganisms**, v. 10, n. 4, p. 688, 2022.
- PHILLIPS, I. *et al.* Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 53, n. 1, p. 28-52, 2004.

- PISSETTI, C. *et al.* Critically Important Antimicrobial Resistance Trends in *Salmonella* Derby and *Salmonella* Typhimurium Isolated from the Pork Production Chain in Brazil: A 16-Year Period. **Pathogens**, v. 11, n. 8, p. 905, 2022.
- POPOFF, M., Y.; BOCKEMÜHL, J.; BRENNER, F. W. Supplement 1998 (nº. 42) to the Kauffmann-White scheme. **Research in Microbiology**, v.151, p. 63-65, 1998.
- POPOFF, M.Y.; LE MINOR, L. Antigenic formulae of the *Salmonella* serotypes, 7th revision. **World Health Organization Collaborating Centre for Reference and Research on Salmonella**, Pasteur Institute, Paris, France, 1997.
- PORTER, S. *et al.* Trends in *Salmonella* serovars and antimicrobial resistance in pigs and poultry in Northern Ireland between 1997 and 2016. **Veterinary Record**, v. 186, n. 5, p. 156-156, 2020.
- PUBLIC HEALTH ENGLAND. **PHE Gastrointestinal infections data**. Summary of *Salmonella* surveillance, 2013. (2014). Disponível em: <[https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment\\_data/file/337647/Salmonella\\_surveillance\\_tables.pdf](https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/337647/Salmonella_surveillance_tables.pdf)>. Acesso em: 20 ago. 2022.
- QUADROS, C. L. *Salmonella* spp. isoladas em abatedouro frigorífico de suínos: resistência a sanitizantes e antimicrobianos. Dissertação de mestrado, Universidade de Passo Fundo, RS, Brasil, 2018.
- RAJIC, A. *et al.* Longitudinal study of *Salmonella* species in 90 Alberta swine finishing farms. **Veterinary microbiology**, v. 105, n. 1, p. 47-56, 2005.
- REGITANO, J. B.; LEAL, R. M. P. Comportamento e impacto ambiental de antimicrobianos usados na produção animal brasileira. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 34, p. 601-616, 2010.
- RODRIGUES, D. P. *et al.* Relatório anual de atividades do Laboratório de Referência Nacional de Enteroinfecções Bacterianas-2013.[sl]: CGLAB. **DEVEP/SVS**, [2014].
- RODRIGUES, G. L. *et al.* Antimicrobial resistance in nontyphoidal *Salmonella* isolates from human and swine sources in brazil: a systematic review of the past three decades. **Microbial Drug Resistance**, v. 26, n. 10, p. 1260-1270, 2020.
- RODRIGUEZ, A. *et al.* Prevalence of *Salmonella* in diverse environmental farm samples. **Journal of food protection**, v. 69, n. 11, p. 2576-2580, 2006.
- RORTANA, C. *et al.* Prevalence of *Salmonella* spp. and *Staphylococcus aureus* in chicken meat and pork from Cambodian Markets. **Pathogens**, v. 10, n. 5, p. 556, 2021.
- RYAN, M. P.; O'DWYER, J.; ADLEY, C. C. Evaluation of the complex nomenclature of the clinically and veterinary significant pathogen *Salmonella*. **BioMed research international**, v. 2017, 2017.
- SANTOS, L.D. *et al.* Comparative study of the occurrence of *S. enterica* serovar Choleraesuis isolated from swine salmonellosis outbreaks during 2013 to 2015 in Brazil. **Proceedings of the 24 rd IPVS Congress**, Dublin, Irlanda, 2016.
- SATO, J.P.H. *et al.* O uso prudente e eficaz de antimicrobianos na suinocultura: uma abordagem integrada. Associação Brasileira dos Criadores de Suínos... Brasília, DF, 2022.

Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1144476/1/final9970.pdf>.  
Acesso em: 10 nov 2022.

SAVELKOUL, P. H. M. *et al.* Amplified fragment length polymorphism analysis: the state of an art. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 37, n. 10, p. 3083-3091, Oct. 1999.

SCHWARTZ, K. J. Salmonellosis. In: STRAW, B.E.; D'ALLAIRE, S.; MENGELING, W.L. **Diseases of Swine**. Ames: Iowa State University Press, 2000, p. 535-551.

SCHWARZ, P. *et al.* *Salmonella enterica*: isolamento e soroprevalência em suínos abatidos no Rio Grande do Sul. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, p. 1028-1034, 2009.

SCHWARZ, S. *et al.* Assessing the antimicrobial susceptibility of bacteria obtained from animals. **Journal of antimicrobial chemotherapy**, v. 65, n. 4, p. 601-604, 2010.

SHINOHARA, N. K. S. *et al.* *Salmonella* spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos. **Ciência & saúde coletiva**, v. 13, p. 1675-1683, 2008.

SILVA, A. J. H. *et al.* *Salmonella* spp. um agente patogênico veiculado em alimentos. **Encontro de Extensão, Docência e Iniciação Científica (EEDIC)**, v. 5, n. 1, 2019.

SILVA, E. F. DA *et al.* Impacto da salmonelose na suinocultura e suas implicações em saúde pública. **Arquivos do Instituto Biológico**, 2016.

SILVA, M. C. *et al.* Prevalência de *Salmonella* sp. em suínos abatidos no Estado de Mato Grosso. **Ciência Rural**, v. 39, p. 266-268, 2009.

SOBESTIANSKY, J. *et al.* **Clínica Veterinária em Sistemas Intensivos de Produção de Suínos e Relatos de Casos Clínicos**. Goiânia, 2001. 153 p.

SOUZA, J. C. P. V. B. *et al.* Sistema de produção de leitões baseado em planejamento, gestão e padrões operacionais. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2013.

SPRICIGO, D. A. *et al.* Prevalência e perfil de resistência a antimicrobianos de sorovares de *Salmonella* isolados de lingüiças suínas tipo frescal em Lages, SC. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 2008.

STEVENS, M. P.; HUMPHREY T. J.; MASKELL, D. J. Molecular insights into farm animal and zoonotic *Salmonella* infections. **Philosophical Transactions of the Royal Society**, v. 364, p. 2709–2723, 2009.

SU, J. *et al.* Distribution and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from pigs with diarrhea in China. **Microorganisms**, v. 6, n. 4, p. 117, 2018.

SUBRAMANIAM, M. D; KIM, I. H. Clays as dietary supplements for swine: A review. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 6, n. 1, p. 1-9, 2015.

TENG, K. T. *et al.* Patterns of antimicrobial resistance in *Salmonella* isolates from fattening pigs in Spain. **BMC veterinary research**, v. 18, n. 1, p. 1-17, 2022.

- THAI, T. H. *et al.* Antibiotic resistance profiles of *Salmonella* serovars isolated from retail pork and chicken meat in North Vietnam. **International journal of food microbiology**, v. 156, n. 2, p. 147-151, 2012.
- THRELFALL, E. J. *et al.* The emergence and spread of antibiotic resistance in food-borne bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, v. 62, n. 1-2, p. 1-5, 2000.
- THRELFALL, E.J.;WARD, L.R; ROWE, B. Increasing incidence of resistance to trimethoprim and ciprofloxacin in epidemic *Salmonella* typhimurium DT104 in England and Wales. **Eurosurveillance**, 2(11), pp.81-84, 1997.
- TORPDAHL, M. *et al.* A regional outbreak of *S. Typhimurium* in Denmark and identification of the source using MLVA typing. **Eurosurveillance**, v. 11, n. 5, p. 5-6, 2006.
- TRICHES, D. *et al.* A cadeia produtiva de carne suína no estado do Rio Grande do Sul e na serra gaúcha. In: XLIV CONGRESSO DA SOBER, Fortaleza, Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural (SOBER). **Congresso[...]** Fortaleza, Ceará, 23-27 jul. 2006. Disponível em: <<http://ageconsearch.umn.edu/bitstream/142535/2/49.pdf>>. Acesso em: 19 fev. 2021.
- TROBOS, M. *et al.* Natural transfer of sulphonamide and ampicillin resistance between *Escherichia coli* residing in the human intestine. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 63, n. 1, p. 80-86, 2008.
- UCS - UNION OF CONCERNED SCIENTISTS. **Hogging it: Estimates of antimicrobial abuse in livestock**. Disponível em: <<http://www.ucsusa.org/punlications/>>. Acesso em: 20 fev. 2021.
- USDA - UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Part II: reference of swine health and health management practices in the United States**. 2007. Disponível em: <[http://www.aphis.usda.gov/animal\\_health/nahms/swine/downloads/swine2006/Swine2006\\_dr\\_PartII.pdf](http://www.aphis.usda.gov/animal_health/nahms/swine/downloads/swine2006/Swine2006_dr_PartII.pdf)>. Acesso em: 20 fev. 2020.
- USDA - UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Swine Disease Information**. 2019. Disponível em: <<https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/animalhealth/animal-disease-information/swine-disease-information/other-programs>>. Acesso em: 28 jun. 2022.
- VAN BOECKEL, T. P. *et al.* Global trends in antimicrobial use in food animals. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 112, n. 18, p. 5649-5654, 2015.
- VAZ, C. S. *et al.* Antimicrobial resistance and subtyping of *Salmonella enterica* subspecies *enterica* sorovar *Enteritidis* from human outbreaks and poultry in southern Brazil. **Poultry Science**, v. 89, p. 1530-1536, 2010.
- VOLF, J. *et al.* *Salmonella enterica* serovar Typhimurium and Enteritidis infection of pigs and cytokine signalling in palatine tonsils. **Veterinary microbiology**, v. 156, n. 1-2, p. 127-135, 2012.
- VAN BELKUM, A. *et al.* Guidelines for the validation and application of typing methods for use in bacterial epidemiology. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 13, p. 1-46, 2007.

VIANA, C. *et al.* Distribution, diversity, virulence genotypes and antibiotic resistance for *Salmonella* isolated from a Brazilian pork production chain. **International journal of food microbiology**, v. 310, p. 108310, 2019.

VIOLA, C., DEVINCENT, S. J. Overview of issues pertaining to the manufacture, distribution, and use of antimicrobials in animals and other information relevant to animal antimicrobial use data collection in the United States. **Preventive Veterinary Medicine**, 73(2–3), 111–131, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2005.09.020>

WANG, B. *et al.* *Salmonella enterica* in swine production: assessing the association between amplified fragment length polymorphism and epidemiological units of concern. **Applied and environmental microbiology**, v. 77, n. 22, p. 8080-8087, 2011.

WEISS, L. H. N. *et al.* Ocorrência de *Salmonella* sp em suínos de terminação no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 22, p. 104-108, 2002.

WEDEL, S. D. *et al.* Antimicrobial-drug susceptibility of human and animal *Salmonella typhimurium*, Minnesota, 1997–2003. **Emerging infectious diseases**, v. 11, n. 12, p. 1899, 2005.

WILKINS, W. *et al.* Distribution of *Salmonella* serovars in breeding, nursery, and grow-to-finish pigs, and risk factors for shedding in ten farrow-to-finish swine farms in Alberta and Saskatchewan. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 74, n. 2, p. 81-90, 2010.

XU, Z. *et al.* Prevalence and antimicrobial resistance of retail-meat-borne *Salmonella* in southern China during the years 2009–2016: The diversity of contamination and the resistance evolution of multidrug-resistant isolates. **International Journal of Food Microbiology**, v. 333, p. 108790, 2020.

ZHU, A. *et al.* Estudo de vigilância da prevalência e resistência antimicrobiana de *Salmonella* em carne suína de mercados abertos em Xuzhou, China. **Food Control**, v. 98, p. 474-480, 2019.