



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA
DOUTORADO EM SAÚDE E PRODUÇÃO ANIMAL NA AMAZÔNIA**

SUELLEN DA GAMA BARBOSA MONGER

**IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR E RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE
Escherichia coli PATOGÊNICAS e *Salmonella* sp. ISOLADAS DE SUÍNOS CRIADOS
NO ESTADO DO PARÁ**

**BELÉM
2019**



SUELLEN DA GAMA BARBOSA MONGER

**IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR E RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE
Escherichia coli PATOGÊNICAS e *Salmonella* sp. ISOLADAS DE SUÍNOS CRIADOS
NO ESTADO DO PARÁ**

Tese apresentada à Universidade Federal Rural da
Amazônia como parte das exigências do Curso de
Doutorado em Saúde e Produção animal na
Amazônia: Área de concentração Saúde Animal
para obtenção do título de doutor.

Orientador: Prof. Dr. Washington Luiz Assunção
Pereira

Co-orientador: Dr^a Daniela Cristiane da Cruz
Rocha

**BELÉM
2019**

SUELLEN DA GAMA BARBOSA MONGER

**IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR E RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE
Escherichia coli PATOGÊNICAS e *Salmonella* sp. ISOLADAS DE SUÍNOS CRIADOS
NO ESTADO DO PARÁ**

Tese apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia como parte das exigências do Curso de Doutorado em Saúde e Produção animal na Amazônia: Área de concentração Saúde Animal para obtenção do título de doutor.

Orientador: Prof. Dr. Washington Luiz Assunção Pereira
Co-orientadora: Dr^a Daniela Cristiane da Cruz Rocha

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Washington Luiz Assunção Pereira - Presidente
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

Prof. Dra. Adriana Maciel de Castro Cardoso Jacques – 1º examinador
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZONIA

Prof. Dr. Alexandre do Rosário Casseb - 2º examinador
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

Prof. Dra. Hilma Lúcia Tavares Dias - 3º examinador
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ

Dr. Sandro Patroca da Silva - 4º examinador
INSTITUTO EVANDRO CHAGAS

Prof. Dr. Rinaldo Batista Viana - 1º suplente
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

Prof. Dr. Ednaldo da Silva Filho - 2º suplente
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela oportunidade, por toda força e paciência depositadas até aqui, diante das dificuldades encontradas não só nesses 4 anos.

À minha família, especialmente minha mãe Sebastiana da Gama, que nunca mediu esforços para me apoiar, meu porto seguro, alguém que me ensina todos os dias como ser uma pessoa melhor; e meu pai Carlos Monger, que sempre tenta me colocar “pra cima” e pelo investimento feito na tentativa da melhor educação.

Ao meu amigo e namorado, Marco Viana, meu outro porto seguro, que há quase 10 anos compartilha as vitórias e alegrias e se esforça para me confortar e amenizar os momentos difíceis. Alguém que estava sempre ali, nas crises de ansiedade, nos momentos de questionamentos.

Ao meu querido orientador, Prof. Dr. Washington Pereira, por todos os preciosos ensinamentos nesses 10 anos de convivência, pela parceria, apoio, paciência, disposição em ensinar e ajudar. Alguém que sempre me confortou quando as dificuldades e o desespero surgiam. Obrigada por entrar nessa luta junto comigo.

À minha coorientadora Dr^a Daniela Rocha, pesquisadora do Laboratório de Enteroinfecções Bacterianas, por possibilitar o processamento das amostras no Instituto Evandro Chagas e por todo ensinamento passado.

À querida Débora Costa, biomédica, admiradora dos animais, técnica do Laboratório de Enteroinfecções Bacterianas do Instituto Evandro Chagas, um anjo a quem serei eternamente grata por toda paciência e auxílio diário no processamento das amostras.

Ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Produção Animal na Amazônia (PPGSPAA), pela oportunidade; inclusive aos docentes pelos ensinamentos repassados.

Ao secretário do PPGSPAA, Jayme Silva, pela boa vontade e paciência em sempre ajudar a resolver problemas burocráticos.

Aos membros da banca examinadora, aqueles que admiro: Prof^a. Dr^a. Adriana Jacques, Prof. Dr. Alexandre Casseb, Prof^a. Dr^a. Hilma Dias e Dr. Sandro Patroca, pela valiosa contribuição crítica através de correções e sugestões para a melhoria desta pesquisa.

Ao prof. Dr. Sebastião Rolim, pela paciência e ajuda na análise estatística.

Aos criadores de suínos da região, que permitiram a coleta das amostras, e dessa forma, contribuíram para que a pesquisa fosse possível.

A CAPES, por fornecer bolsa de pós-graduação que foi imprescindível para possibilitar minha dedicação exclusiva no desenvolvimento da pesquisa.

À todos que de alguma forma torceram ou contribuíram para que esta tese se tornasse realidade.

“Aprenda a ser filtro, não esponja
Aprenda a não carregar todo peso do mundo
Aprenda que mesmo dando seu melhor,
Certas coisas não dependem de você, não se torture”

RESUMO

MONGER, S. G. B. **Identificação molecular e resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* patogênicas e *Salmonella* sp. isoladas de suínos criados no Estado do Pará.** 2019. 90 f. Tese (Doutorado em Saúde e Produção Animal na Amazônia, Universidade Federal Rural da Amazônia, 2019).

Na região Norte, a suinocultura caracteriza-se como fonte complementar de renda, e com pouca atenção aos cuidados higiênico-sanitários, o que favorece as infecções bacterianas entéricas responsáveis por grande impacto na suinocultura e algumas na saúde coletiva. No ecossistema amazônico, pouco se conhece a respeito de enterobactérias em suínos destinados ao abate. Deste modo, objetivou-se investigar a ocorrência de *Escherichia coli* patogênicas e *Salmonella* sp. em suínos criados no Estado do Pará, determinar os fatores de risco, além de verificar o perfil de resistência à antimicrobianos das cepas patogênicas. Foram colhidas 200 amostras de fezes (*swab* retal) de suínos procedentes de 15 propriedades localizadas na Mesorregião Metropolitana de Belém e do Nordeste Paraense e processadas no Laboratório de Enterobactérias do Instituto Evandro Chagas, Ananindeua, PA. Para isolamento de *E. coli*, as amostras foram semeadas nos caldos EC e GN, incubadas e a seguir semeada em Ágar MacConkey. As colônias suspeitas foram identificadas em TSI (Triple Sugar Iron Agar) para posterior caracterização bioquímica. A caracterização do patótipo foi realizada a partir da amplificação através da técnica da PCR (Polymerase Chain Reaction) Multiplex. Para o isolamento de *Salmonella* sp., amostras foram inoculadas nos caldos de enriquecimento Selenito Cistina e Rappaport e, após incubação, foram semeadas nos meios de cultura seletivos-indicadores Salmonella-Shigella (SS) e em ágar Xilose-Lisina-Descarboxilato (XLD). Colônias suspeitas foram identificadas em TSI para posterior identificação bioquímica e confirmados por PCR. A susceptibilidade aos agentes antimicrobianos dos isolados foi avaliada utilizando o sistema automatizado VITEK[®] 2 Compact (bioMérieux). Os dados foram tabulados e avaliados através de software estatístico *Statistical Analysis System* (SAS, 2019), utilizando-se o teste estatístico qui-quadrado (χ^2) com nível de significância de 5%. Para determinar os fatores de risco, os resultados das fichas foram tabulados e o teste *odds ratios* utilizado para cada variável investigada, calculadas considerando como variável dependente o status do animal (positivo ou negativo) para a bactéria patogênica. Das 200 amostras de suabes fecais, 40,5% apresentaram *E. coli* patogênicas isoladas e identificadas pela PCR, destas, 26% de *E. coli* enteropatogênicas (EPEC), 11% *E. coli* enterohemorrágicas (EHEC), 11% *E. coli* enteroinvasoras (EIEC), além de 3% (6/200) com *Salmonella* sp.. Em relação aos fatores de risco pesquisados, somente a presença de outras espécies animais e o material dos galpões do tipo madeira foram considerados estatisticamente significativos. Entre os isolados de *E. coli* considerados patogênicos, 72,62% demonstraram sensibilidade para todos os antimicrobianos testados, 27,38% resistência para pelo menos 1 antimicrobiano testado e 26,19% das amostras apresentaram multirresistência. As maiores resistências foram para Ampicilina (22,62%), Trimetoprim Sulfametoxazol (19,04%), Cefalotina (16,66%) e Ácido nalidíxico (13,09%). Ademais, 7,14% para Ciprofloxacina, 5,95% para Cefuroxima, 3,57% para Nitrofurantoína, 2,38% para Ceftriaxona, para Norfloxacina e para Amoxicilina e 1,9% para Ertapenem. Deste modo, foi possível verificar a ocorrência de *E. coli* patogênicas e *Salmonella* sp. em suínos criados no Estado do Pará; chamando atenção a heterogeneidade dos animais acometidos. Além disso, observou-se resistência dessas cepas patogênicas surgindo uma grande preocupação a respeito da seleção de genes de resistência em bactérias presentes na microbiota de animais utilizadas como fonte de alimento.

Palavras chaves: Enteropatógenos. Suínos. Resistência antimicrobiana. Estado do Pará.

ABSTRACT

MONGER, S. G. B. **Molecular identification and antimicrobial resistance of pathogenic *Escherichia coli* and *Salmonella* sp. isolated from swines raised in the State of Pará.** 2019. 90 f. Thesis (Doctorate degree in Health and Animal Breeding in Amazônia, Federal Rural University of Amazon, 2019).

In the northern region, pig farming is characterized as a complementary source of income, and with little attention to hygienic-sanitary care, which favors enteric bacterial infections that have a great impact on pig farming and some on collective health. In the Amazonian ecosystem, little is known about enterobacteria in slaughter pigs. Thus, the objective was to investigate the occurrence of pathogenic *Escherichia coli* and *Salmonella* sp. in pigs raised in the State of Pará, to determine the risk factors, besides verifying the antimicrobial resistance profile of pathogenic strains. 200 swine fecal swab samples were collected from 15 farms located in the Metropolitan Mesoregion of Belém and Northeast Paraense and processed at the Evandro Chagas Institute Enterobacterial Laboratory, Ananindeua, PA. For *E. coli* isolation, samples were sown in EC and GN broths, incubated and then seeded on MacConkey Agar. Suspected colonies were identified on TSI (Triple Sugar Iron Agar) for further biochemical characterization. The characterization of the pathotype was performed from amplification by PCR (Polymerase Chain Reaction) Multiplex technique. For isolation of *Salmonella* sp., Samples were inoculated into the Selenite Cystine and Rappaport enrichment broths and, after incubation, were sown in the selective culture media-indicators *Salmonella*-*Shigella* (SS) and on Xylose-Lysine-Descarboxylate (XLD) agar. . Suspicious colonies were identified on TSI for later biochemical identification and confirmed by PCR. The susceptibility to antimicrobial agents of the isolates was evaluated using the automated VITEK® 2 Compact system (bioMérieux). Data were tabulated and evaluated using statistical software Statistical Analysis System (SAS, 2019), using the chi-square statistical test (χ^2) with a significance level of 5%. To determine the risk factors, the results of the records were tabulated and the odds ratios test used for each investigated variable, calculated considering as dependent variable the animal status (positive or negative) for the pathogenic bacterium. Of the 200 fecal swab specimens, 40.5% had pathogenic isolated *E. coli* identified by PCR, of which 26% enteropathogenic *E. coli* (EPEC), 11% enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC), 11% *E. coli* enteroinvasoras (EIEC), in addition to 3% (6/200) with *Salmonella* sp. . Regarding the risk factors investigated, only the presence of other animal species and the material of the wood type houses were considered statistically significant. Among the *E. coli* isolates considered pathogenic, 72.62% showed sensitivity for all tested antimicrobials, 27.38% resistance for at least 1 tested antimicrobial and 26.19% of the samples showed multidrug resistance. The highest resistances were for Ampicillin (22.62%), Trimethoprim Sulfamethoxazole (19.04%), Cephalothin (16.66%) and Nalidixic Acid (13.09%). In addition, 7.14% for Ciprofloxacin, 5.95% for Cefuroxime, 3.57% for Nitrofurantoin, 2.38% for Ceftriaxone, Norfloxacin and Amoxiline and 1.9% for Ertapenem. Thus, it was possible to verify the occurrence of pathogenic *E. coli* and *Salmonella* sp. in pigs raised in the state of Pará; calling attention to the heterogeneity of the affected animals. In addition, resistance of these pathogenic strains was observed and there was a great concern regarding the selection of resistance genes in bacteria present in the microbiota of animals used as a food source.

Key words: Enteropathogens. Swine. Antimicrobial resistance. State of Pará.

SUMÁRIO

RESUMO	6
ABSTRACT	7
1 INTRODUÇÃO	9
2 CONTEXTUALIZAÇÃO	11
3 REVISÃO DE LITERATURA	12
3.1 <i>Escherichia coli</i>	12
3.1.1 Patotipos da <i>E. coli</i>	14
3.1.1.1 Enteropatogênci (EPEC).....	14
3.1.1.2 Enteroinvasora (EIEC).....	15
3.1.1.3 Enterohemorrágica (EHEC).....	16
3.1.1.4 Enterotoxigênica (ETEC).....	19
3.1.1.5 Enteroagregativa (EAEC).....	21
3.1.2 Aspectos gerais da colibacilose em suínos.....	22
3.1.3 Resistência antimicrobiana da <i>E. coli</i>	24
3.2 O gênero <i>Salmonella</i>	25
3.2.1 Salmonelose em suínos.....	30
3.2.2 Resistência antimicrobiana da <i>Salmonella</i>	31
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34
5 CAPÍTULO I	46
6 CAPÍTULO II	58
7 CAPÍTULO III	74
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS	89

1 INTRODUÇÃO

A carne suína é a principal fonte de proteína animal no mundo, superando a carne bovina e de frango. Embora o mercado interno brasileiro não siga este padrão de consumo, o Brasil se destaca por uma elevada produção, que atende a demanda interna por produtos processados e a internacional por carne suína *in natura*, ocupando o ranking de 4º maior produtor e exportador mundial e o 6º em consumo de produtos derivados de suínos (MIELE; MACHADO, 2010; ABIPECS, 2013).

A suinocultura brasileira tem crescido com tecnificação, através do melhoramento genético, da sanidade e nutrição, além da melhoria das instalações, e na questão do bem-estar animal nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste, onde se concentra a produção (MIELE et al., 2011).

Na região Norte brasileira, por outro lado, a suinocultura não tem passado por incrementos tecnológicos, caracterizando-se como produção de subsistência ou fonte complementar de renda através da comercialização regular ou esporádica em mercados consumidores locais. A expansão da bovinocultura tem coincidido com um acentuado declínio do efetivo suíno na região, cada vez mais restrito às propriedades de pequeno porte (GALVÃO et al., 2006; IBGE, 2012). Nestas condições, a criação é realizada geralmente em pequenas propriedades em escala familiar, sem acompanhamento técnico e com pouca atenção aos cuidados higiênico-sanitários, criando um ambiente favorável à disseminação de agentes infecciosos (CARDOSO, 2009; COSTA, 2009).

As infecções bacterianas entéricas são responsáveis por grande impacto na indústria de suínos em todo o mundo, causando aproximadamente 30% das perdas econômicas na suinocultura moderna relacionadas a mortalidade, atraso no crescimento, redução da eficiência alimentar e nos custos adicionais com tratamento e alimentação (BURCH, 2000). Além disso, alguns patógenos podem ser potencialmente zoonóticos, representando um risco para saúde coletiva (MENIN et al., 2008).

Entre as principais bactérias associadas à patogênese de enterites em suínos estão *Escherichia coli*, principalmente enterotoxigênica (ETEC) e verotoxigênica (VTEC) e *Salmonella* sp. (ZLOTOWSKI et al., 2008; FAIRBROTHER; GYLES, 2012).

Uma das estratégias mais adotadas para prevenir e controlar essas diversas infecções, entre elas as enterites, tem sido a terapia antimicrobiana. Entretanto, a falta de critérios para o uso adequado e seguro dos antimicrobianos pode resultar em resíduos de antimicrobianos em

produtos de origem animal, à resistência bacteriana e a sérios riscos à saúde coletiva (BACCARO et al., 2002). Deste modo, surge uma grande preocupação a respeito da seleção de genes de resistência em bactérias presentes na microbiota de animais utilizadas como fonte de alimento e a possibilidade da transferência destes genes para bactérias do trato intestinal humano.

No Brasil, o Estado do Pará apresenta 788.692 cabeças de suínos (IBGE, 2017), o que representa 41% da região Norte, e no que diz respeito ao ecossistema amazônico, pouco se conhece a respeito da ocorrência desses micro-organismos em suínos destinados ao abate, da resistência a antimicrobianos e fatores de risco aos seres humanos. Deste modo, esta pesquisa tem por propósito investigar a ocorrência de *E. coli* patogênicas e *Salmonella* sp. em suínos criados no Estado do Pará, além de verificar o perfil de resistência a antimicrobianos das cepas patogênicas, a fim de fornecer dados que poderão ser utilizados para melhor direcionar as medidas de controle.

2 CONTEXTUALIZAÇÃO

As enterobactérias são responsáveis por agravos à saúde animal e humana, sobre o tema a literatura demonstra total falta de conhecimento acerca desses agentes patogênicos em suínos criados no Estado do Pará, bem como dos fatores que podem favorecer a infecção e ocorrência de casos clínicos. Certamente, às questões ambientais e a falta de manejo sanitário nas criações contribuem para isso. Esses casos sejam clínicos ou subclínicos podem levar a prejuízos econômicos e sociais para o Estado.

Às infecções por *E. coli* e *Salmonella* sp. apesar de ser um problema antigo e muito conhecido em suinocultura, continuam a ser um desafio para os profissionais da área. Além disso, os níveis crescentes de resistência observados entre as estirpes virulentas limitam cada vez mais as opções de tratamento.

O elevado uso de antimicrobianos de forma profilática ou terapêutica em suínos tem levado a evolução de estirpes de bactérias multirresistentes com alta capacidade de transferir seu material genético e, conseqüentemente, seus genes de resistência para outras estirpes comensais e patogênicas para humanos e animais. Devido às mudanças constantes no perfil e no padrão de multirresistência que as enterobactérias sofrem nas criações de suínos, é de grande importância, o monitoramento das características de resistência fenotípicas e genotípicas tanto em agentes patogênicos como em estirpes habituais da microbiota.

Ressalta-se que como nenhuma investigação ainda foi conduzida no Estado do Pará para determinar a ocorrência de enterobactérias patogênicas em suínos, o presente estudo propõe determinar o perfil epidemiológico atual, detectando a presença dos diferentes patótipos de *Escherichia coli* (EPEC, STEC, ETEC, EIEC, EAEC), através de Reação em Cadeia Polimerase (PCR) e *Salmonella* sp. em amostras de fezes de suínos sem e com sinais de infecções entéricas, criados no Estado do Pará, além de avaliar o perfil de resistência antimicrobiana das bactérias patogênicas isoladas;

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 *Escherichia coli*

Pertencente à família Enterobacteriaceae, o gênero *Escherichia* compreende as espécies *Escherichia coli*, *E. blattae*, *E. fergusonii*, *E. hermanii* e *E. vulneris* (TRABULSI; ALTERTHUM, 2016).

As *E. coli* são caracterizadas como bactérias Gram-negativas, anaeróbia facultativa, não esporulada, apresentam-se como bacilos móveis (com flagelos peritríqueos e fímbrias) ou imóveis, algumas vezes encapsulado, oxidase negativa, capaz de fermentar a glicose e a lactose com produção de ácidos e gases. Cresce numa grande variedade de meios de cultura, sendo 37°C a temperatura ótima para crescimento (QUINN et al., 2005).

São produtoras de catalase e a maioria de gás. As colônias apresentam entre 1 a 3 mm de diâmetro, podem ser lisas, convexas, cinzas e com bordas regulares, ou rugosas. O ágar MacConkey é o meio mais utilizado para o isolamento, nele verifica-se colônias de cor rosa, além da fermentação da lactose, importante característica que a diferencia de outros patógenos entéricos, como a *Salmonella* sp. No ágar sangue, pode-se caracterizar as colônias hemolíticas e as mucóides, comuns em casos de diarreia suína (QUINN et al., 2005; FAIRBROTHER; GYLES, 2012).

A espécie é identificada fenotipicamente através de várias características bioquímicas, como ausência da enzima citocromo oxidase, positiva para indol, para prova de lisina e na reação de vermelho de metila, negativa na utilização de citrato, redução de nitratos, fermentação positiva da glicose, maltose, manose, manitol, xilose, glicerol, ramanose, sorbitol e arabinose, com produção de ácido e gás; além de ausência da produção de H₂S, na maioria dos casos (STROHL et al., 2004; QUINN et al., 2005).

Embora a espécie bovina seja o principal reservatório, essas bactérias também já foram isoladas a partir das fezes de outros animais domésticos: ovelhas, cabras, cães, gatos e suínos (BEUTIN et al., 1993; BERTÃO, 2007) e silvestres: bisões, veados, gaivotas, javali, alce, coelhos selvagens, ratos, pássaros (TRABULSI; SAMPAIO, 1999; KUDVA; STASKO, 2013).

Uma grande variedade de cepas de *E. coli* já foi descrita na literatura, sendo a grande maioria comensais inofensivos constituintes da microbiota intestinal normal de mamíferos saudáveis, entretanto, existem cepas patogênicas, que ao adquirir fatores de virulência específicos tornam-se responsáveis por amplo espectro de doenças humanas, que compreende

desde diarreias leves à colite hemorrágica, a síndrome hemolítica urêmica e a púrpura trombocitopênica trombótica (NATARO; KAPER, 1998; PATON; PATON, 1998).

Essas cepas patogênicas têm evoluído e adquirido a capacidade de colonizar, multiplicar-se e causar danos em ambientes diversificados, além de se adaptarem em hospedeiros distintos. Provavelmente isso se dá pela plasticidade genômica, através de elementos genéticos (plasmídeos, fagos, transposons) (KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004).

Baseado na composição antigênica: somáticos (O), capsulares (K), flagelares (H) e fimbriais, é possível obter a tipificação sorológica ou sorogrupo da *E.coli* e para isso, são utilizados anti-soros (CAMPOS et al., 2004). De acordo com Fairbrother e Gyles (2012), mais de 700 sorogrupos já foram caracterizados.

Apesar da sorotipagem ocupar uma posição central na história deste patógeno, o diagnóstico da infecção por *E. coli* vêm sendo cada vez mais direcionado a identificação dos fatores de virulência específicos. Essa outra forma de caracterização pode ser realizada por reação de polimerização em cadeia (PCR), e a partir de genes associados à patogenicidade da mesma, permite-se definir com precisão o potencial patogênico de *E. coli* (TENG et al., 2004; CHENG et al., 2006).

A PCR é um método rápido, sensível e específico, frequentemente usado para determinar a presença de patógenos em humanos, animais e alimentos. Recentemente, numerosos grupos têm desenvolvido protocolos PCR multiplex usando dois ou mais pares de "primer" para aumentar a especificidade para identificação de *E. coli* patogênica (FRANCO; LANDGRAAF, 2008).

Deste modo, baseado nos fatores de virulência, manifestações clínicas, epidemiologia e sorotipagem, as estirpes de *E. coli* consideradas patogênicas são agrupadas em cinco classes de origem intestinal: EPEC (*E. coli* enteropatogênica), EIEC (*E. coli* enteroinvasora), ETEC (*E. coli* enterotoxigênica), EHEC (*E. coli* entero-hemorrágica) e EAEC (*E. coli* enteroagregativa) (JOHNSON; NOLAN, 2009).

Estudos filogenéticos têm revelado que populações comensais e patogênicas de *E. coli*, isoladas de uma ampla variedade de hospedeiros e de origem geográfica diversa, podem ser subdivididas em quatro grupos filogenéticos principais: A, B1, B2 e D. As linhagens de *E. coli* patogênicas causadoras de doenças extraintestinais (ExPEC) pertencem, em sua maioria, ao grupo B2 e, em minoria, ao grupo D; enquanto as comensais e agentes de doença diarreica são normalmente encontradas como membros dos grupos A, B1 e D (CLERMONT; BONACORSI; BINGEM, 2000; MOULIN-SCHOULER, et al., 2007).

3.1.1 Patotipos da *E. coli*

3.1.1.1 *E. coli* Enteropatogência (EPEC)

A EPEC é geralmente associada com diarreia esporádica, associada à ingestão de alimentos ou água contaminados, ocorrendo diarreia aguda na maioria dos casos em crianças abaixo de seis meses em países em desenvolvimento. No adulto, não expressa os sintomas da doença, possivelmente por aquisição de imunidade (CROXEN; FINLAY, 2010).

Em humanos e animais, cepas de EPEC colonizam as microvilosidades de todo o intestino, principalmente o intestino delgado, causando uma diarreia aquosa contendo muco acompanhada de vômitos e febre, podendo chegar num quadro crônico, caracterizado por sequelas como má absorção, má nutrição, perda de peso e retardo no crescimento (MINAGAWA, 2007).

Em relação à espécie humana, no Brasil, essas cepas são responsáveis por cerca de 30% dos casos de diarreia aguda em crianças pobres com idade inferior a seis meses, com predominância dos sorotipos O111:[H-], O111:[H2], O119:H6 e O55:H6 (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

De acordo com Teng et al. (2004), a importância clínica das *E. coli* enteropatogênicas (EPEC) tem sido relatada, além de suínos, em coelhos, ruminantes, cães, cordeiros, macacos e no próprio homem. Contudo, em especial no Brasil, poucos são os dados relativos à prevalência da infecção por esse patotipo nos suínos. *E. coli* enteropatogência pode determinar um sério impacto à suinocultura por estar envolvida no desenvolvimento de diarreias neonatais e pós-desmame (AN et al., 2000).

Esta bactéria possui um sistema complexo de secreção que possui mais de 20 proteínas efetoras, o que possibilita a aderência das mesmas ao intestino delgado e grosso dos animais, sendo o duodeno e o ceco os locais de maior colonização (ZHU et al., 1994; AN et al., 2000). A lesão produzida é denominada *attaching effacing*. Neste processo, uma proteína de membrana externa da bactéria denominada intimina provoca um rearranjo no citoesqueleto da célula, particularmente nos filamentos de actina, a partir da polimerização das Esps (*EPEC secreted proteins*) levando a uma diminuição das microvilosidades dos enterócitos e à formação de “pedestais” onde a bactéria se aloja, facilitando a adesão bacteriana à membrana celular do hospedeiro, e resultando na degeneração dos enterócitos, inflamação da lâmina própria, principalmente, no íleo. Desta forma, a ruptura das microvilosidades promove perda de enzimas

digestivas do glicocálix, provocando interferências na digestão, perda da capacidade absorptiva do epitélio intestinal e diarreia (AN et al., 2000; SILVA; SILVA, 2005; McGAVIN; ZAACHARY, 2013).

A EPEC é caracterizada pelo fenótipo de adesão localizada (AL), associada ao plasmídeo EAF (EPEC adherence factor). Várias adesinas têm sido estudadas como fatores de patogenicidade nas EPEC, porém a que tem demonstrado maior importância é a *Bundle forming pillus* (BFP). Esta fímbria, codificada por um plasmídeo (*EAF-EPEC Adherence Factor*) com cerca de 80kb, tem se mostrado importante para a interação célula-célula e a formação da microcolônia, bem como para a dispersão das bactérias desse arranjo. Para Cleary et al. (2004), esta fímbria também é muito importante para adesão inicial da bactéria aos enterócitos.

O contato com as células epiteliais resulta na secreção de diversas proteínas disparando resposta na célula hospedeira, incluindo a ativação de um sinal de rotas de transdução, a despolarização das células e a ligação da proteína intimina da membrana externa. A intimina é codificada pelo gene *eae*. Não produzem nenhuma enterotoxina ou citotoxina (CROXEN; FINLAY, 2010).

3.1.1.2 *E. coli* Enteroinvasora (EIEC)

De acordo Vieira et al. (2007) e Moreno et al. (2010), embora a EIEC seja um dos agentes etiológicos da diarreia, poucos estudos epidemiológicos foram realizados globalmente para estimar a carga real de doenças devido a EIEC, fatores de risco individuais para infecção ou potenciais reservatórios deste patótipo, uma vez que muitas vezes é considerado um agente etiológico raro de diarreia em comparação com outros enteropatógenos.

A EIEC foi relatada pela primeira vez como "paracolon bacillus" em 1944, mas foi posteriormente designada como *E. coli* O124. A EIEC está associada a sorotipos O de *E. coli* específicas: O28ac: NM, O29: NM, O112ac: NM, O121: NM, O124: NM, O124: H30, O135: NM, O136: NM, O143: NM, O144: NM, O152: NM, O159: H2, O159: NM, O164: NM, O167: H4, O167: H5, O167: NM e O173: NM (Gibotti et al., 2004). Todos os sorotipos são imóveis, com exceção de poucos biótipos de O28ac, O29, O124, O136 e O143 (SILVA et al., 1980; UDDIN; WAHID, 2014).

Essa classe de *E. coli* têm a capacidade de causar disenteria usando o mesmo método de invasão que a *Shigella* sp. O sequenciamento de múltiplos genes indica que EIEC está mais

relacionado à *Shigella* do que à *E. coli* não invasiva (VAN DEN BELD; REUBSAET, 2012; UD-DIN; WAHID, 2014).

Cepas de *E. coli* enteroinvasoras, normalmente são identificadas pela amplificação dos genes *IpaH*, responsável pela invasão sistêmica de *E. coli* intestinais (TENG et al., 2004; UD-DIN; WAHID, 2014).

Em humanos e animais, as cepas EIEC causam distúrbios no intestino grosso, provocam febre e diarreias profusas contendo muco e sangue. O microrganismo coloniza o cólon e contém um plasmídios de 120 a 140 MDa necessários para a invasão, já que carregam todos os genes necessários para a virulência. Causam um distúrbio que é indistinguível dos sintomas da disenteria causada pelas espécies de *Shigella* (CAMPOS; TRABULSI, 2002; SYDOW, 2005).

Segundo McGavin e Zaachary (2013), a colibacilose septicêmica ou enteroinvasiva afeta bezerros, cordeiros e potros recém-nascidos que não receberam colostro suficiente para desenvolver imunidade. Nessa doença, geralmente verifica-se inflamação fibrinosa em várias localizações do corpo.

3.1.1.3 *E. coli* Enterohemorrágica (EHEC)

E. coli enterohemorrágica (EHEC) também conhecida por *E. coli* produtora de toxina Shiga (STEC) ou toxina verotoxigênica (VTEC) engloba as estirpes produtoras de Shiga-toxinas do tipo 1 (Stx1), o tipo 2 (STx2) e a Shiga toxina variante 2e (Stx2e), também descritas na literatura como VT1, VT2 e VT2e, já que são letais para culturas de células Vero (ZWEIFEL et al., 2006).

A Stx1 é muito semelhante à principal citoxina produzida pela *Shigella dysenteriae* sorotipo 1. Entre os membros do Stx2, há algumas diferenças. Esse patótipo abriga plasmídios de vários tamanhos e a intimina, codificada pelo cromossomo *eae*, e também considerado fator de virulência expresso por elas, sendo responsável pela fixação da bactéria às células epiteliais intestinais dos mamíferos e produzem o mesmo fenômeno que as linhagens de EPEC, descritas anteriormente como “attaching and effacing” na mucosa intestinal (AN et al., 2000; DEBROY; MADOX, 2001; CROXEN; FINLAY, 2010).

Algumas variantes de Stx1 foram descritas: Stx1c e Stx1OX3 encontradas em amostras de *E. coli* isoladas de humanos e ovinos (KOCH et al., 2001; ZHANG et al., 2002) e Stx1d, de amostras bovinas (BÜRK et al., 2003). Cinco variantes biológicas de Stx2 foram descritas, as quais diferem umas das outras por sua antigenicidade, toxicidade e seqüência genética: Stx2,

Stx2c, Stx2d e Stx2f (anteriormente denominada Stx2ev) isoladas de humanos e Stx2e, isolada de suínos (KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004; ERCOLI et al., 2015).

Para Nataro e Kaper (1998) e Paton e Paton (1998), a produção de uma ou mais toxinas Shiga, isoladamente, não é suficiente para causar doenças e outros fatores são considerados relevantes, como a presença do plasmídeo pO157, que codifica a enterohemolisina e a produção de adesinas fimbriais e afimbriais.

O grupo inclui os sorotipos O157, O26 e O111. Tendo o sorotipo O157:H7 grande importância na saúde pública (SILVA et al., 2011).

Embora o sorotipo O157:H7 esteja ligado à maioria dos surtos associados a STEC descritos mundialmente, estudos recentes indicam que a incidência deste sorotipo vem decaindo substancialmente (CDC, 2014).

As *E. coli* produtoras de Stx1 geralmente estão relacionadas a um amplo espectro de doenças humanas, que compreende desde diarreias leves à doenças graves em humanos como colite hemorrágica, síndrome hemolítico-urêmica, a púrpura trombocitopênica trombótica e colite ulcerativa (KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004).

Humanos podem ser infectados por STEC ao ingerir alimentos de origem animal contaminados, principalmente a carne bovina, o que tornou esta categoria de *E. coli* objeto de estudos na medicina humana e veterinária (MAINIL; DAUBE, 2005).

Os surtos relacionados à EHEC, geralmente são associados ao consumo de carne mal cozida, leite, alface, frutas entre outros. A facilidade de ocasionar surtos deve-se a necessidade de uma dose infectante muito pequena (menor que 100 células) (KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004; BÉLANGER et al., 2011).

De acordo com Nakazawa, Akiba e Sameshima (1999) e Trotz-Williams et al. (2012), os suínos ou subprodutos também podem abrigar EHEC que infectam humanos, entretanto, os bovinos, que geralmente não apresentam sinais clínicos, são considerados reservatórios mais importantes (RANGEL et al., 2005; TENG et al., 2004). Mais de 200 sorotipos de VTEC já foram isolados apenas de bovinos (McGAVIN; ZAACHARY, 2013).

A prevalência de STEC em populações de suínos clinicamente saudáveis tem sido relatada em numerosos estudos em várias regiões do mundo. Inclusive, em alguns, surpreendentemente, a prevalência em amostras de suínos foi maior do que em bovinos, sugerindo que suínos podem ser uma fonte importante desse organismo em alguns países (BORIE, 1997; ATEBA; MBEWE, 2011). Por exemplo, a prevalência de *E. coli* O157:H7 no Chile em suínos foi 10,8% e em bovinos 2,9% (BORIE et al., 1999); no México, de 1,25% em

fazendas de gado e 2,1% nas explorações suinícolas (CALLAWAY et al., 2004); e na África do sul, Ateba et al. (2008), verificaram ocorrência em suínos e bovinos de 44-50% e 5,4-20%, respectivamente.

Estudos experimentais e epidemiológicos sugerem que os suínos são hospedeiros biologicamente competentes e um potente reservatório de *E. coli* O157: H7 (FEDER et al., 2003; CORNICK; HELGERSON, 2004). Nesse sentido, estudo com suínos infectados experimentalmente com *E. coli* O157: H7, Booher, Cornick e Moon (2002) observaram que a eliminação da bactéria persiste por pelo menos 2 meses. Também foi demonstrado que *E. coli* O157: H7 pode ser transmitida horizontalmente entre suínos alojados em condições de confinamento (CORNICK; HELGERSON, 2004).

E. coli produtoras de Stx2 são consideradas importantes para suínos causando doença do edema. As fímbrias F18a/b e F4 (K88) estão relacionadas à adesão dessas cepas. Durante a multiplicação da bactéria, a shiga toxina é produzida e absorvida pela circulação sistêmica, onde induz a inativação da síntese proteica em células do endotélio vascular do intestino delgado, em tecidos subcutâneos e no encéfalo. A lesão das células endoteliais induz o aparecimento do edema e de sinais neurotóxicos característicos da doença (HENTON; HUNTER, 1994; TENG et al., 2004).

A enterotoxina (exotoxina termolábil) bacteriana produzida no intestino delgado, por indução da IL-8, chega via hematogena, causa lesão endotelial vascular generalizada das arteríolas e artérias, resultando em perda de fluxo e edema evidente principalmente na submucosa gástrica, pálpebras, vesícula biliar e mesentério do colón espiral (CHENG et al., 2006).

É caracterizada por ser uma doença de suínos entre seis a 14 semanas de idade ou quatro a 15 dias após o desmame e pode estar associada a mudanças na dieta durante o desmame. Sinais neurológicos como incoordenação motora, cegueira, paresia, desequilíbrio, fraqueza, tremores, movimentos de pedalagem e convulsões podem ocorrer por encefalomalácia simétrica focal ou angiopatia cerebral suína. A morbidade é aproximadamente 35% e todos os animais morrem (McGAVIN; ZAACHARY, 2013).

Segundo Santos e Alessi (2010), nos casos agudos da doença do edema, ocorre edema subcutâneo, principalmente pálpebras, orelhas, fronte, focinho e lábios, dispneia, diarreia aparente no estágio final, podendo apresentar estrias de sangue. Nos animais que sobrevivem, podem ser observados distúrbios nervosos unilaterais caracterizados por andar em círculos ou com cabeça inclinada lateralmente, além de atrofia muscular, fraqueza e perda de peso.

Geralmente o histórico e os achados clínicos são conclusivos, sendo que o exame histopatológico do encéfalo e isolamento puro de *E. coli* patogênica no intestino permite a confirmação do diagnóstico (SOBESTIANSKI et al., 1999).

3.1.1.4 *E. coli* Enterotoxigênica (ETEC)

As bactérias pertencentes ao grupo ETEC são importantes causas de diarreia aquosa em humanos e outros mamíferos jovens, além de indivíduos idosos, variando desde um quadro leve a uma doença grave de diarreia autolimitante. Este patótipo é considerado uma das causas bacterianas mais comum de desidratação em crianças menores de dois anos, especialmente, em países em desenvolvimento (KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004, FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Outra forma de diarreia descrita associada a este grupo é a diarreia do viajante, que ocorre preferencialmente em regiões tropicais, em indivíduos expostos à água e alimentos contaminados em regiões onde o saneamento básico é inadequado. Um inóculo relativamente grande é necessário para produzir doença; portanto, a transmissão de pessoa a pessoa não é significativo para este organismo (KATOULI, 2010).

Em humanos e animais, as ETECs colonizam as proximidades do intestino delgado causam diarreia aquosa e produzem hipotermia. Este patótipo se parece com o *Vibrio cholerae* no fato de aderirem-se à mucosa do intestino delgado e causarem diarreia sem invadir a mucosa, porém produzindo toxinas que agem nas células da mucosa e fatores de colonização específicos (CFA/ I a IV) (ROCHA, 2008; CROXEN; FINLAY, 2010).

Este grupo de *E. coli* merece destaque para enterites na indústria suinícola, já que causa cerca de 840 milhões de infecções gastrointestinais e cerca de 380.000 mortes por ano em porco, sendo considerada a principal causa infecciosa de morte neonatal e de leitões desmamados, embora os suínos mais velhos pareçam ser resistentes a infecção (FRANCIS, 2002; ZHANG et al., 2007; GUPTA et al., 2008; FAIRBROTHER; GYLES, 2012).

O estresse, a imaturidade do trato gastrointestinal, a redução nos níveis de anticorpos recebidos passivamente são importantes fatores na infecção por ETEC em suínos desmamados, uma vez que a mudança na alimentação do leitão altera a fisiologia dos animais e induz a uma elevação do pH estomacal, e conseqüentemente, redução na atividade bactericida gástrica. Por isso, há maior predisposição em leitegadas de fêmeas primíparas, devido à baixa quantidade e qualidade do colostro (HENTON; HUNTER, 1994; FAIRBROTHER; GYLES, 2012). Para

esses autores, na diarreia pós-desmame ocorre elevação do número de *E. coli* hemolíticas em relação às não hemolíticas no trato.

A colibacilose enterotoxigênica no final do aleitamento e no período de creche são menos severas do que as diarreias neonatais. Sugere-se que o pH baixo do estômago dos animais mais velhos destrua a bactéria (FAIRBROTHER; GYLES, 2012; McGAVIN; ZAACHARY, 2013).

Os principais fatores de virulência da ETEC estão associados às adesinas representadas pelas fímbrias F4(K88), F5(K99), F6(987P), F18 (F18ab e F18ac), F107 e F41; a adesina afimbrial chamada AIDA (adesina envolvida em aderência difusa); a proteína de superfície denominada Paa, além de enterotoxinas termolábeis (LT) e termoestáveis (ST), sendo ambas relatadas em animais desmamados com diarreia ou doença do edema (DUBREUIL, 2008; MOXLEY; SMITH, 2010; FAIRBROTHER; GYLES, 2012).

Os fatores de virulência do ETEC podem ser transferidos horizontalmente entre as cepas. A patogênese inicia com a aderência e colonização bacteriana à superfície das células epiteliais intestinais a partir das fímbrias, seguido da produção das toxinas, possibilitando a ETEC causar diarreia aquosa secretória profusa, pelo aumento da secreção de íons, além de alterações circulatórias sistêmicas decorrentes da toxina termolábil (LT), termoestáveis (STa, STb e EAST1) e da toxina shiga (STx2e) (BAILEY, 2009; SANTOS; ALESSI, 2010).

As toxinas LT são classificadas em dois sorogrupos denominados LTI e LTII cujos genes codificadores estão associados ao DNA plasmidial e cromossomal, respectivamente. A toxina LTI difere da LTII ainda por ser neutralizada pelo soro anti-toxina colérica e pode ser subdividida em LTp produzida por *E. coli* isoladas de suínos e a LTh produzida por *E. coli* isoladas de humanos. As LT2 são também subdivididas em LTIIa e LTIIb, que são antigenicamente distintas (DUBREUIL, 2008).

O grupo termoestável também subdividi-se em dois que diferem entre si estruturalmente e no mecanismo de ação: STa ou STI ou ST1 (variantes de STa, denominadas STIa (STI suína) e STIb (STI humana) e STb (também chamada de STII ou ST2). Estas toxinas são codificadas por genes localizados em plasmídeos, variando muito no tamanho molecular (DUBREUIL, 2008).

É importante ressaltar que a ETEC, diferentemente da EHEC, é um agente não invasivo, ou seja, não causa danos nas células epiteliais intestinais e sim, a interrupção da homeostase das células intestinais (BAILEY, 2009).

A disseminação de *E. coli* patogênicas pode ocorrer via aerossóis, ração, veículos e por outros animais. A primeira manifestação clínica em leitões acometidos pela diarreia pós-

desmame é a redução do consumo da ração, diarreia aquosa caracterizada por fezes volumosas, aquosas, de coloração amarelo a branca, sem sangue e com ou sem vômitos, irritação na pele e da região perianal, desidratação, determinando acidose metabólica e morte súbita de alguns animais a partir de dois dias após o desmame (pico entre 6 e 10 dias) (BAILEY, 2009; SANTOS; ALESSI, 2010; McGAVIN; ZAACHARY, 2013).

A severidade do processo depende dos fatores de virulência envolvidos, da idade e da condição imunológica do suíno. Particularmente nas primeiras horas de vida dos leitões, a infecção pode ser tão severa que a morte antecede a diarreia. A colibacilose na terceira semana varia de discreta a moderada, apresentando aspectos semelhantes a diarreia neonatal e os índices de morbidade e mortalidade são baixos. Observa-se ainda, apenas discreto atraso no desenvolvimento dos leitões, havendo uma evolução para a cura no período de uma a duas semanas, após o aparecimento da diarreia (FAIRBROTHER; GYLES, 2012).

Na necropsia, verifica-se intestino delgado dilatado, flácido e preenchido por fluido translúcido e amarelo, além de gás, desidratação (enoftalmia) e abdome retraído (McGAVIN; ZAACHARY, 2013).

3.1.1.5 *E. coli* Enteroagregativa (EAEC)

A *E. coli* enteroagregativa (EAEC) é um enteropatógeno emergente em razão de seu crescente envolvimento com a doença diarreica aguda e persistente que acomete, especialmente, crianças de países em desenvolvimento, além de persistir no intestino humano subclínicamente, induzindo inflamação crônica na ausência de disenteria (HUANG et al., 2004; OKHUYSEN, et al, 2010; ASLANI et al., 2011).

De acordo com Aslani et al. (2011), a EAEC é mais resistente aos antibióticos do que outros patótipos diarreio-genicos. Apesar da variabilidade fenotípica e genotípica comumente descrita no grupo das EAEC, investigações epidemiológicas sugerem que a patogenicidade seja um atributo de subpopulações dentro da categoria, as quais compartilham propriedades específicas (JENKINS et al., 2005; REGUA-MANGIA et al., 2009).

Por definição, *E. coli* enteroagregativa (EAEC) é um grupo de bactérias que abrange sorogrupos de *E. coli*, os quais aderem a linhagens celulares in vitro, tais como células HeLa e HEp-2, formando agregados bacterianos localizados na superfície celular e em regiões da lamínula livre de células, em arranjo semelhante a tijolos empilhados (aderência agregativa) (NATARO et al., 1995). A patogênese deste patótipo é determinada pela capacidade de

aderência às células intestinais, principalmente no colón, produzindo enterotoxinas e citotoxinas (NATARO; KAPER, 1998; NATARO et al., 1998; HUANG et al., 2004).

Diante da heterogeneidade genética apresentada por essa categoria de *E. coli*, a expressão de biofilmes é considerada um fator de virulência consensual entre as cepas de EAEC (HUANG et al., 2004; TORRES et al., 2005; WEINTRAUB, 2007).

Ao nível molecular, os genes que codificam para o fenótipo agregado estão contidos num grande plasmídeo (pAA): o regulador aggR (controlador de genes plasmáticos que codificam fatores de virulência e pelo menos 2 ilhas de patogenicidade no cromossomo da bactéria); a dispersina (proteína antígenômica antiagregante, responsável por modular a adesão e facilitar a penetração do organismo por meio do muco intestinal, ligando-se ao lipopolissacarídeo e alterando as propriedades eletrostáticas da superfície da membrana externa) (NATARO; KAPER, 1998; HUANG et al., 2004).

O íleo de coelhos e ratos infectados com a EAEC demonstrou na microscopia de luz lesões destrutivas, além da diminuição das vilosidades, necrose hemorrágica e leve resposta inflamatória com edema e infiltrado mononuclear da submucosa (VIAL et al., 1988).

De acordo com Harrington, Dudley e Natarro (2006), EAEC é classificada em "típica" quando o gene aggR estiver presente e em "atípica" quando o aggR estiver ausente. Embora a EAEC atípica tenha sido identificada em bezerros, leitões e cavalos, os animais não foram implicados como fonte ou reservatório para infecção humana (UBER; TRABULSI; IRINO, 2006).

3.1.2 Aspectos gerais da colibacilose em suínos

As cepas de *E. coli* foram identificadas como importantes causa de várias doenças em suínos em todo o mundo, incluindo septicemia neonatal, diarreia neonatal e pós-desmame, doença do edema, septicemia, poliserosite, mastite, infecções do trato urinário, além de poder colonizar lesões existentes em outros lugares do corpo (FAIRBROTHER; GYLES, 2012).

A colibacilose em suínos é dividida em três tipos quanto a faixa etária: neonatal (primeiros dias após nascimento), de animais jovens (primeira semana até o desmame) e pós-desmame; e dependendo dos fatores de virulência presente nas cepas, da idade e do estado imunitário dos animais, poderá ocorrer diferentes formas clínicas (SANTOS; ALESSI, 2010).

Fatores intrínsecos e extrínsecos determinam se a doença será produzida pela infecção, entre eles, constituição genética do hospedeiro, transferência passiva de anticorpos específicos

pelo colostro, contaminação ambiental e a condição nutricional, além de fatores estressantes como temperaturas extremas, superlotação e infecções intercorrentes por outros agentes (McGAVIN; ZAACHARY, 2013).

A colibacilose é a enfermidade entérica de maior impacto na produção de suínos, particularmente para animais neonatos e em pós-desmame, podendo ser causada principalmente por dois patótipos: *E. coli* enterotoxigênica (ETEC) e *E. coli* verotoxigênica (VTEC) (HENTON; HUNTER, 1994; COSTA et al., 2006; FAIRBROTHER; GYLES, 2012).

Nas matrizes podem ser observadas diversas manifestações clínicas, como mastites, que podem afetar até 82% das matrizes com agalactia e as infecções urinárias, onde a *E. coli* está associada a diversos outros patógenos na etiologia inespecífica da enfermidade (STRAW, 1984).

Somente o isolamento de *E. coli* a partir de amostras de fezes e conteúdo intestinal não é suficiente para o diagnóstico da enfermidade. Nesse sentido, as técnicas de sorologia, ELISA, imunofluorescência e PCR (genotipificação) podem ser empregadas para a biotipificação de adesinas e toxinas (WILLS, 2000).

No Sul do Brasil, avaliou-se a presença de diferentes fatores de virulência em 152 isolados de *E. coli* intestinais e extra-intestinais provenientes de suínos pela técnica de PCR multiplex. Das amostras de fezes analisadas, 25 demonstraram fatores de virulência característicos do patótipo ETEC (GIARDINI et al., 2012).

Almeida et al. (2007) analisaram 223 amostras de fezes de leitões com diarreia provenientes de Ribeirão Preto - SP e destes, foram isoladas 131 cepas de *E. coli*, sendo 71(32,7%) não enterotoxigênicas e 60 (27,7%) enterotoxigênicas.

Em estudo realizado numa província chinesa, Kobayashi et al. (2003) detectaram STEC em dez de 169 (6%) amostras fecais, EAEC em cinco (3%) das amostras fecais, não sendo verificado ETEC em nenhuma amostra.

Tanih et al. (2015) estudaram a prevalência de *E. coli* em bovinos e suínos abatidos em matadouros no distrito de Vhembe da África do Sul; de um total de 176 amostras de suaves (28 bovinos e 16 suínos) da garupa, flanco, peito e pescoço dos animais, 104 (67,5%) foram positivas para *E. coli*, e destas, 13,46% eram patogênicas, sendo 1,9% enteropatogênica (EPEC), 3,8% enterotoxigênica (ETEC), e 7,6% enteroagregativa (EAEC).

3.1.3 Resistência antimicrobiana da *E.coli*

Marshall e Levy (2011), referem que o uso não controlado de antibióticos em animais de produção é preocupante não pela perspectiva da clínica veterinária, mas de um aspecto zoonótico também, uma vez que pode contribuir para a prevalência de resistência nas cepas humanas de *E. coli*, bem como em um padrão similar.

E. coli é uma das principais espécies onde plasmídeos contendo genes envolvidos no processo de resistência múltipla aos antimicrobianos vêm sendo descritos, sendo os eventos de transposição e integração importantes mediadores da resistência múltipla às drogas antimicrobianas, além de possuir um intervalo entre gerações muito curto e dispor de mecanismos de transferência de material genético. Essa característica está relacionada a sua grande distribuição ambiental e propensão a albergar elementos genéticos móveis, em especial os plasmídeos (SHERLEY et al., 2004). De acordo com esses autores, o principal mecanismo de transferência da multi-resistência aos antimicrobianos em *E. coli* parecem ser os plasmídeos. Estes elementos podem ser transferidos via conjugação entre duas bactérias pela formação de uma pili F. Associado a isto, os plasmídeos podem facilmente receber outros genes de resistência aos antimicrobianos via integração mediada por integrons e transposons.

No Brasil, observou-se perfil de multirresistência em amostras de *E. coli* isoladas em esterqueiras na região de Concórdia (Silva et al., 2008). Na mesma região, verificou-se que 86,14% das linhagens de *E. coli* isoladas em água subterrânea foram resistentes à pelo menos um antimicrobiano (SCHNEIDER; NADVORNY; SCHMIDT, 2009). Desinfetantes e suplementos alimentares podem apresentar uma importante força de seleção para bactérias resistentes numa criação de suínos (YATES et al., 2004).

Franco et al. (2010), ao avaliarem a resistência antimicrobiana de cepas de *E. coli* isoladas de amostras de dejetos e carne suína provenientes dos Estados do Rio de Janeiro, Minas Gerais, Paraná e Santa Catarina; verificaram resistência à pelo menos sete antibióticos usados rotineiramente no tratamento das enfermidades transmitidas por alimentos de todas as cepas de *E. coli* patogênicas, sendo sensíveis apenas à gentamicina e à tobramicina.

Na análise de amostras referente a 15 granjas de suínos localizadas nos Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, Minas Gerais e Goiás; a susceptibilidade antimicrobiana dos isolados apresentaram níveis de resistência superiores a 60% para amoxicilina, ampicilina, ciprofloxacina, enrofloxacin, estreptomicina e sulfametoxazole + trimetoprim; sendo os maiores índices (96,3%) observados para tetraciclina (SATO et al., 2015).

Nos Estados Unidos foi desenvolvido um estudo em que se coletou fezes ao longo de um ano dos três principais estados produtores de suínos (Iowa, Norte Carolina e Minnesota) e a *E. coli* foi mais frequentemente resistente à tetraciclina (89%) e às sulfonamidas (33%) (ABLEY et al., 2013). Mesmos achados foram obtidos em amostras de animais submetidos ao abate em Portugal (PENA et al., 2004).

No Canadá, Boerlin et al. (2005) demonstraram que existe uma grande diferença na resistência aos antimicrobianos entre isolados de ETEC e outros comensais. Na Suíça Stephan e Schumacher (2001) verificaram *E. coli* VETEC resistente às tetraciclinas, sulfonamidas e estreptomicina, usadas indiscriminadamente na alimentação de suínos no país.

Recentemente, Liu et al. (2016) verificaram aumento da resistência a antibióticos em *E. coli* comensal de animais de produção na China, devido gene de resistência à colistina mediada por plasmídeos, altamente móvel, transferível, designado como *mcr-1*, observado em 21% (166/804) de amostras de *E. coli* coletadas de suínos entre 2011 e 2014. Na África do Sul, um programa de vigilância sanitária de frangos também revelou aumento da resistência a colistina nas cepas de *E. coli* isoladas (GERBER, 2016).

Após estes relatos, outros estudos demonstraram a rápida propagação deste gene na maioria dos continentes (SKOV; MONNET, 2016). Devido este alerta e recomendações de organizações internacionais, no Brasil, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) emitiu uma instrução normativa proibindo o uso desta substância na alimentação animal, com o objetivo de aditivo zootécnico melhorador de desempenho, sendo liberado seu uso para o tratamento de enfermidades (BRASIL, 2016).

3.2 O gênero *Salmonella*

A *Salmonella* sp. pertence à família Enterobacteriaceae, é bactéria gram-negativa, anaeróbia facultativa, não formadora de esporos, apresenta forma de bastonetes curtos (2-4 x 0,5 µm), geralmente, móveis (possuindo flagelos peritríquios), não fermentadoras de lactose e sacarose, capazes de utilizar citrato como única fonte de carbono e produzir gás a partir da glicose, é oxidase negativa e catalase positiva, geralmente produzem sulfureto de hidrogênio, também descarboxila a lisina e a ornitina, e não hidrolisa a ureia (QUINN et al., 2005; FRANCO; LANDGRAF, 2008).

A *Salmonella* sp. está amplamente difundida na natureza, e predominantemente encontrada na água, solo, em aves, ovos e produtos lácteos (BRASIL, 2015; WHO, 2015). Além

de frutas e vegetais frescos (PUI et al., 2011). Embora os animais de produção sejam a principal fonte de infecção (ENG et al., 2015) e o processo de abate considerado uma das fontes importantes de contaminação de órgãos e carcaças (GILLESPIE et al., 2005).

Durante sua evolução, este gênero vem se adaptando a diferentes ambientes através da modulação na expressão de seus genes, propriedade essencial para a sua patogenicidade (LÓPEZ et al., 2012).

A salmonelose é considerada uma das principais toxinfecções alimentares em humanos (BOLLAERTS et al., 2008), atingindo 131.468 casos humanos anuais relatados na União Europeia (CARRASCO et al., 2012) e 45.735 nos Estados Unidos (CDC, 2013).

Embora resistam meses no ambiente, são sensíveis à luz solar e aos desinfetantes mais comuns como fenóis, clorados e iodados (OLIVEIRA et al., 2000). Consideradas bactérias termossensíveis, são destruídas a 60 °C por 15 a 20 minutos, se multiplicam a uma temperatura entre 7 °C e 45 °C e tem seu crescimento entre 35 e 43 °C e pH ótimo entre 7 e 7,5, podendo este ser evitado pela refrigeração do alimento abaixo de 5 °C ou pela manutenção dos mesmos acima de 63 °C (FORSYTHE, 2002; JAY, 2005).

A sobrevivência da *Salmonella* sp. no meio ambiente pode ser muito longa, em particular na matéria orgânica. Pode permanecer viável no material fecal por longo período (anos), particularmente em fezes secas, podendo resistir mais de 28 meses nas fezes de aves, 30 meses no estrume bovino, 280 dias no solo cultivado e 120 dias na pastagem, sendo ainda encontrada em efluentes de água de esgoto, como resultado de contaminação fecal (BRASIL, 2011).

Consideradas enteroinvasivas, todas as espécies conhecidas de *Salmonella* são patogênicas, causando diarreia aguda e crônica, e morte em várias espécies animais e em seres humanos (McGAVIN; ZAACHARY, 2013).

A nomenclatura da *Salmonella* sp. é complexa e continua evoluindo. O sistema recomendado para denominar *Salmonella* é o da Organização Mundial da Saúde (OMS). O gênero é constituído das seguintes espécies: *S. enterica*, *S. bongori* e *S. subterrânea* (BRASIL, 2011). A espécie *S. enterica* subdivide-se em seis subespécies baseado na sequência genômica e propriedades bioquímicas que são denotadas com números romanos: I, *S. enterica* subsp. *enterica*; II, *S. enterica* subsp. *salamae*; IIIa, *S. enterica* subsp. *arizonae*; IIIb, *S. enterica* subsp. *diarizonae*; IV, *S. enterica* subsp. *houtenae*; e VI, *S. enterica* subsp. *indica* (RABSCH et al., 2002). As subespécies são adicionalmente qualificadas pelo sorotipo, tendo uma designação final, por exemplo *S. enterica* subsp. *enterica* sorotipo *Typhimurium* (QUINN et al., 2005).

Kauff e White desenvolveram um sistema para classificação baseado na composição antigênica: Somáticos (O), flagelares (H) e capsulares (Vi) e mais de 2.500 sorovares de *Salmonella* sp. já foram identificados, variando conforme hospedeiros, região, época e virulência, uma vez que a maioria desses sorotipos tem a capacidade de adaptar-se a uma variedade de animais (QUINN et al., 2005; BRASIL, 2011, ENG et al., 2015).

O antígeno O somático termo-estável é o componente lipopolissacarídeo localizado na membrana bacteriana externa; os antígenos H termo-lábeis estão envolvidos na ativação das respostas imunes do hospedeiro e os antígenos da superfície K são polissacarídeos sensíveis ao calor localizados na superfície capsular bacteriana e são os antígenos menos comuns encontrados nos sorotipos de *Salmonella* sp. (PUI et al., 2011).

No Brasil, entre os anos de 2000 e 2015, foi o principal agente etiológico identificado nos surtos notificados, sendo detectada em 14,7% dos casos e entre os tipos de alimentos envolvidos, a carne suína e seus derivados corresponderam a uma parcela de 2,1% dos casos em que foi possível a identificação do alimento envolvido no surto (BRASIL, 2015).

A *Salmonella* pode ser identificada na microbiota fecal de animais domésticos, com e sem sinais entéricos, que eliminam o microrganismo de forma intermitente, como roedores e pássaros silvestres que contaminam os alimentos e a água permitindo a propagação da doença. A infecção dos animais ocorre predominantemente pela ingestão de alimentos e água contaminados, embora também possa ocorrer por meio das mucosas do trato respiratório superior e da conjuntiva (RADOSTITS et al., 2007; SANTOS; ALESSI, 2010).

Entretanto, para a maior parte dos animais de produção, geralmente esta enterobactéria estabelece clinicamente infecção inaparente de duração variável e, em condições de estresse, os sorovares considerados não patogênicos podem também causar a doenças (FORSHELL; WIERUP, 2006).

Para McGavin e Zaachary (2013), a forma de ocorrência da salmonelose (septicêmica, entérica aguda, ou entérica crônica) depende da dose de desafio da bactéria, exposição prévia à bactéria e fatores de estresse (superpopulação, transporte, temperaturas extremas, mudanças na dieta, gestação, cirurgia).

Embora a *S. enterica* subsp. *enterica* mereça destaque, a maioria dos sorotipos do gênero *Salmonellas* são patogênicos ao homem, apresentando diferenças de sintomatologia em decorrência da variação no mecanismo de patogenicidade, além da idade e da resposta imune do hospedeiro (TRABULSI; ALTERTHUM, 2015).

Essa mesma subespécie possui maior importância nas enteroinfecções em animais de sangue quente (QUINN et. al., 2005). Em contraste, as outras cinco subespécies de *S. enterica* e *S. bongori* são encontradas principalmente no ambiente e também em animais de sangue frio e, portanto, são raras em seres humanos (BRENNER et al., 2000). De acordo com Forshell e Wierup (2006), o sorovar *S. Typhi* e as cepas de *S. Paratyphi* são patógenos específicos para humanos, não possuindo reservatório animal.

O habitat natural da *Salmonella* sp. pode ser dividido em três categorias, com base na especificidade do hospedeiro e padrão clínico por ele determinado: altamente adaptadas ao homem, incluindo *S. Typhi* e *S. Paratyphi* A, B e C, agentes da febre entérica (febres tifoide e paratifoide); altamente adaptadas aos animais, representadas por *S. Dublin* (bovinos), *S. Choleraesuis* e *S. Typhisuis* (suínos), *S. Abortusequi* (equinos), *S. Pullorum* e *S. Gallinarum* (aves), responsáveis pelo paratifo dos animais. Entretanto, em determinadas situações (idade jovem, pacientes com doenças crônicas, idosos, imunocomprometidos), os sorovares *S. Dublin* e *S. Choleraesuis* podem determinar no homem um quadro septicêmico, isto é, mais grave do que o causado por *S. Typhi* (BRASIL, 2011).

Quinn et al. (2005), assevera que não existe espécie-especificidade na infecção dos animais pelos mais de 2000 diferentes sorotipos descritos para o microrganismo, embora evidências apontem certa seletividade de determinados sorotipos nas infecções em animais: *S. Pullorum* e *S. Gallinarum* em aves domésticas, *S. Choleraesuis* em suínos e *S. Dublin* em bovinos, *S. Abortus ovis* em ovelhas, *S. Abortus equi* em cavalos, enquanto a *S. Typhimurium* possui variedade de hospedeiros. Esses sorovares adaptados ao hospedeiro causam principalmente abortos ou gastroenterite em seu hospedeiro animal (FORSHELL; WIERUP, 2006).

Em relação aos sorovares, os mais isolados em animais doentes incluem *S. Typhimurium*, *S. enterica*, *S. Dublin*, *S. Choleraesuis*, *S. Typhosa*, *S. Newport*, *S. Anatum*, e *S. Montevideo* (SANTOS; ALESSI, 2010); sendo os sorovares *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Hadar* e *S. Infantis* isolados tanto em humanos como animais (FORSHELL; WIERUP, 2006).

Bai et al. (2015) verificaram *S. enterica* sorovar Enteritidis, *S. enterica* sorovar Hadar e *S. enterica* sorovar Indiana como predominantes em amostras de frango enquanto *S. enterica* sorovar Typhimurium, *S. enterica* sorovar Derby e *S. enterica* sorovar Enteritidis em amostras de suínos.

Entre os fatores de risco, o contato com outras espécies animais podem ser representativos, já que todos os vertebrados são suscetíveis à infecção (FUNK; DAVIES;

GEBREYES, 2001). Embora essa relação não tenha sido encontrada em outras pesquisas (KABAGAMBE et al., 2000).

Outros fatores de risco descritos são: a densidade do rebanho, em que a maior prevalência de salmonelose é associada a maiores densidades (FUNK; DAVIES; GEBREYES, 2001); além da presença de espécies de invertebrados, já que segundo Liebana et al. (2003), estes podem servir como reservatórios ou vetores potenciais para *Salmonella* sp.

A via de infecção permite, após uma passagem pelo estômago, uma colonização das bactérias através de três rotas: invasão ativa de enterócitos; de células epiteliais especializadas da mucosa denominadas células M; ou de células dentríticas. Posteriormente, uma interação da bactéria com o epitélio e tecido linfóide subjacentes, leva à produção de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas, por meio de recrutar e ativar outras células imunes como neutrófilos, macrófagos, células dendríticas, e células T / B, resultando em enterite (GRASSL; FINLAY, 2008; SANTOS; ALESSI, 2010).

A resposta inflamatória está relacionada também com a liberação de prostaglandinas, que são estimuladoras de adenilciclase, o que resulta em um aumento de secreção de água e eletrólitos, provocando diarreia aquosa (HAIMOVICH; VENKATESA, 2006; FRANCO; LANDGRAF, 2008).

A habilidade em invadir células do hospedeiro, replicar-se e resistir a digestão por fagócitos e a destruição por componentes plasmáticos do complemento é fundamental para a virulência da *Salmonella* sp. Após aderência na mucosa intestinal através das fímbrias, as bactérias induzem invaginações (vesículas) na membrana celular que facilitam a entrada de bactérias e na presença de plasmídeo de virulência, sua replicação. O comprimento das cadeias do antígeno O do lipopolissacarídeo (LPS) é responsável pela resistência à destruição pelo complemento, além dos efeitos endotóxicos da infecção (QUINN et al., 2005).

A gastroenterite é a manifestação mais comum da infecção por *Salmonella* sp., seguida de bacteremia e febre (MAJOWICZ et al., 2010). De acordo com Santos e Alessi (2010), a enterocolite e a septicemia são as formas que caracterizam a salmonelose nos animais domésticos.

Na septicemia hiperaguda causada por *Salmonella* sp., os animais jovens (bezerros, potros e suínos) são os mais afetados, sendo geralmente fatal para os de 1 a 6 meses de idade ocorrendo por coagulação intravascular disseminada; e o sorovar mais frequente envolvido é a *S. Choleraesuis*. Entre os achados necroscópicos estão necrose fibrinóide dos vasos sanguíneos (McGAVIN; ZAACHARY, 2013).

Para Santos e Alessi (2010), a salmonelose entérica aguda é causada mais frequentemente pela *S. Typhimurium*, sendo caracterizada por enterite catarral difusa com ileotiflocolite fibrinonecrótica difusa. Antígenos bacterianos fimbriais específicos são responsáveis pela invasão e, posteriormente as endotoxinas induzem trombose. Ademais, múltiplos focos de necrose hepatocelular, hiperplasia das células de Kupffer e linfadenopatia podem estar presentes, sendo a colecistite fibrinosa patognomônica. Além disso, observa-se petéquias e equimoses nas serosas pleural e peritoneal, no endocárdio, nos rins e nas meninges.

Segundo os mesmos autores a salmonelose entérica crônica também ocorre em suínos, bovinos e equinos, com discretos focos de necrose e ulceração no ceco e cólon. Macroscopicamente a enterocolite manifesta-se por hiperemia ou hemorragia da mucosa, que pode estar ou não ulcerada, além de apresentar espessamento e exsudato avermelhado ou amarelado, ou acinzentado desidratação em até 24 horas.

3.2.1 Salmonelose em suínos

Embora alguns estudos demonstrem que o trato respiratório superior e os pulmões podem ser porta de entrada para *Salmonella* sp. em suínos (BELOEIL et al., 2007), a infecção ocorre principalmente por via oral e depois se espalha para o sistema linfático, que atua como barreira no primeiro momento, mas pode se tornar reservatório posterior, permitindo a eliminação ambiental do agente e sua disseminação através de outros animais (BOEYEN et al., 2008). Desta forma, animais subclínicos podem excretar *Salmonella* sp. em suas fezes ou manter a bactéria em seu trato digestivo, principalmente em linfonodos ou amígdalas (ARGELLO et al., 2012).

Diversas bactérias (*Mycoplasma hyopneumoniae*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*) e vírus (Vírus porcino da síndrome respiratória e reprodutiva, Vírus da doença de Aujeszky) podem induzir imunodeficiência em suínos, e conseqüentemente, a uma colonização mais fácil pela *Salmonella* sp. (BELOEIL et al., 2007).

A salmonelose em suínos ocorre principalmente na idade de quatro a oito semanas e está relacionado principalmente ao sorotipo Typhimurium podendo ser sintomática ou assintomática e ter difícil diagnóstico (PARK; RYU, 2000; SILVA et al., 2009). Quando sintomática, os animais apresentam decréscimos no desempenho de crescimento por gastroenterite autolimitante (FARZAN; FRIENDSHIP, 2010; ROSTAGNO; CALLAWAY, 2012).

É comum a presença de úlceras intestinais de limites bem demarcados, formando cicatrizes que provocam estenose do segmento retal, e conseqüentemente, estes animais demonstram retardo no desenvolvimento, distensão abdominal e constipação (WATANABE et al., 2011).

Em toda a cadeia produtiva de carne suína diferentes sorotipos são identificados, sendo isolada em várias etapas de produção, incluindo a produção primária, o transporte de animais, as etapas pré-abate e pré-evisceração, especialmente durante a escaldagem, a abertura do abdômen e a retirada do cólon (LETELLIER et al., 2009, DUGGAN et al., 2010, GOMES-NEVES et al., 2012), sendo o sorotipo Typhimurium apontado como o principal e mais prevalente (VAN HOEK et al., 2012; MARIER et al., 2014; GUERRA FILHO et al., 2016; LI et al., 2016). E dependendo da dose de inoculação, a infecção por *S. Typhimurium* pode resultar em sinais clínicos e excreção fecal de grandes quantidades de bactérias (BOYEN et al., 2008).

No Brasil, há vários relatos em relação à ocorrência deste patógeno associado à carne suína. No Estado do Mato Grosso, Silva et al. (2009), ao pesquisarem em linfonodos mesentéricos e tonsilas, detectaram 16,6% de animais positivos, sendo os sorovares Derby (16%) e Typhimurium (14%) os mais frequentes. Bessa, Costa e Cardoso (2004) verificaram no Rio Grande do Sul, a prevalência de 55,66% de animais positivos, ao testarem linfonodos mesentéricos, fezes e conteúdo intestinal, sendo os principais sorovares Typhimurium (24,3%) e Agona (19,9%). Em Santa Catarina, Kich et al. (2011) observaram prevalência de 90% de animais positivos para amostras de *swabs* do assoalho da laringe e 67% para linfonodos mesentéricos, sendo os sorovares Typhimurium (50,7%) e Panama (28,5%) os mais encontrados.

3.2.2 Resistência antimicrobiana da *Salmonella* sp.

Vários estudos vêm apontando o isolamento de cepas de *Salmonella* sp. multirresistentes, incluindo as principais drogas de escolha nas práticas terapêuticas para protocolos veterinários e humanos, como amostras obtidas de suínos em 16 países pertencentes à União Européia, e em outros 14 países quando investigados amostras de carne suína (EFSA, 2014).

No Brasil, diferentes sorotipos desse gênero isolados de suínos no Rio Grande do Sul apresentaram resistência a sulfonamidas (83,9%), tetraciclina (37,4%), cotrimoxazol (25,2%),

ampicilina (20,2%), cloranfenicol (16,1%), estreptomicina (14,1%) e ácido nalidíxico (10,1%), sendo 24,2% resistentes a várias drogas (CASTAGNA et al., 2001).

Guerra Filho et al. (2016) verificaram *Salmonella* sp. em 10% das amostras de fezes e linfonodos de suínos abatidos em São Paulo e Santa Catarina, e todas apresentaram resistência a pelo menos um antimicrobiano testado, sendo 90% resistente a pelo menos quatro antimicrobianos.

Schmidt e Cardoso (2003), ao analisarem amostras de *Salmonella* sp. isoladas de sistema de tratamento de dejetos suínos localizado no sul do Brasil, verificaram resistência contra sulfonamida (100%), tetraciclina (99,4%), estreptomicina (90,1%), sulfa/ trimetoprima (84,5%), ácido nalidíxico (77,6%), ampicilina (76,4%), cloranfenicol (29,2%), cefaclor (25,5%), tobramicina (13,7%), gentamicina (6,2%), amoxicilina/ácido clavulânico (5%), neomicina (5%) e amicacina (3,7%).

Nos Estados Unidos foi desenvolvido um estudo em que se coletou fezes ao longo de um ano dos três principais estados produtores de suínos (Iowa, Carolina do Norte e Minnesota) e a *Salmonella* sp. foi mais frequentemente resistente à tetraciclina (76%), ao sulfisoxazol (59%) e à estreptomicina (55%) (ABLEY et al., 2013).

Estudo desenvolvido por Alyzza et al. (2017) nas Filipinas, foram coletados linfonodos e jejuno de 240 suínos, e destes, resultaram 183 isolados de *S. enterica* que revelaram alta resistência à ampicilina (67,8%) e trimetoprim / sulfametoxazol (80,3%). Na China, destacou-se resistência à ciprofloxacina (10,0%) e Cefotaxime (8,6%), além de multiresistência de 57,1% dos isolados suínos (BAI et al., 2015). Já na Tailândia, estudo de Boonkhot, Tadee e Patchanee (2015) demonstraram que quase 90% de *Salmonella* sp. eram resistentes a pelo menos 1 antimicrobiano e 72% eram resistentes a múltiplos fármacos.

Para Hur; Jawale e Lee (2012), é perceptível a crescente preocupação em relação ao surgimento mundial de fenótipos multirresistentes entre sorotipos de *Salmonella* sp. como *S. typhimurium*, *S. enteritidis* e *S. newport*, principalmente, resistência a quinolonas, fluoroquinolonas ou cefalosporinas de espectro estendido, como ceftiofur e ceftriaxona. Recentemente, a ocorrência de isolados resistentes a estes antibióticos aumentou.

Portanto, o monitoramento contínuo de sua prevalência e resistência no fornecimento de alimentos é necessário devido às implicações de saúde pública de uma disseminação potencial de microorganismos resistentes. Além disso, uma abordagem de manejo de animais, como controle rigoroso de agentes antimicrobianos na indústria animal, diagnóstico clínico e microbiológico precoce, tratamento adequado e implementação de padrões sanitários rigorosos

também são necessários para reduzir significativamente a carga global de salmonelose em saúde humana (HUR; JAWALE; LEE, 2012).

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIPECS 2013. **Produção mundial de carne suína**. Associação Brasileira da Indústria Produtora e Exportadora de Carne Suína.

ABLEY, M.; FEDORKA-CRAY, P. J.; GEBREYES, W.; MCKEAN, J., DAVIES, P.; THAKUR, S., LARSEN, S. Prevalence and antimicrobial resistance of Salmonella, E. coli, and Campylobacter in pigs from swine producing states in the United States. **Safepork** p. 76-78, 2003.

ALMEIDA, F. S.; RIGOBELLO, E. C.; MARIN, J. M.; MALUTA, R. P.; ÁVILA, F. A. Diarréia suína: estudo da etiologia, virulência e resistência a antimicrobianos de agentes isolados em leitões na região de Ribeirão Preto-SP, Brasil. **Ars Veterinaria**, v. 23, n. 3, p. 151-157, 2007.

AN, H. Y.; FAIRBROTHER, J. M.; DÉSAUTELS, C.; MABROUK, T.; DUGOURD, D.; DEZFULIAN, H.; HAREL, J. Presence of the LEE (locus of enterocyte effacement) in pig attaching and effacing Escherichia coli and characterization of eae, espA, espB and espD genes of PEPEC (pig EPEC) strain 1390. **Microbial Pathogenesis**, v. 28, n. 5, p. 291-300, 2000.

ARGELLO, H.; CARVAJAL, A.; COLLAZOS, J. A.; GARCÍA-FELIZ, C.; RUBIO, P. 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.

ASLANI, M. M.; ALIKHANI, M. Y.; ZAVARI, A.; YOUSEFI, R.; ZAMANI, A. R. Characterization of enteroaggregative (EAEC) clinical isolates Escherichia coli and their antibiotic resistance pattern. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 15, n. 1, p. 136–139, 2011.

ATEBA, C. N.; MBEWE, M. Detection of Escherichia coli O157:H7 virulence genes in isolates from beef, pork, water, human and animal species in the northwest province, South Africa: public health implications. **Research in Microbiology**, v. 162, n. 1, p. 240–248, 2011.

BACCARO, M.R.; MORENO, A. M.; CORRÊA, A.; FERREIRA, A. J. P.; CALDERARO, F. F. Resistência antimicrobiana de amostras de Escherichia coli isoladas de fezes de leitões com diarreia. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 69, n. 2, p. 15-18, 2002.

BAI, L.; LAN, R.; ZHANG, X.; CUI, S.; XU, J.; GUO, Y.; LI, F.; ZHANG, D. Prevalence of Salmonella Isolates from Chicken and Pig Slaughterhouses and Emergence of Ciprofloxacin and Cefotaxime Co-Resistant S. enterica Serovar Indiana in Henan, China. **Plos One**, v. 10, n. 12, p. 1-14, 2015.

BAILEY, M. The mucosal immune system: recent developments and future directions in the pig. **Developmental and Comparative Immunology**, v. 33, n. 1, p. 375–383, 2009.

BALODA, S. B.; KROVACE, K.; ERIKSSON, L.; LINNE, T.; MANSSON, I. Detection of aerolysin gene in Aeromonas strains isolated from water fish and food by PCR. **Comparative Immunology Microbiology and Infectious Disease**, v. 18, n. 1, p. 17-26, 1995.

BÉLANGER, L.; GARENAUX, A.; HAREL, J.; BOULIANNE, M.; NADEAU, E.; DOZOIS, CM. *Escherichia coli* from animal reservoirs as a potential source of human extraintestinal pathogenic *E. coli*. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 4, n. 2, p. 134-163, 2011.

BELOEIL, P. A.; CHAUVIN, C.; PROUX, K.; FABLET, C.; MADEC, F.; ALIOUM, A. Risk factors for *Salmonella* seroconversion of fattening pigs in farrow-to-finish herds. **Veterinary research**, v. 38, n. 1, p. 835-848, 2007.

BERTÃO, A. M. S.; SARIDAKIS, H. O. *Escherichia coli* produtora de toxina shiga (STEC): principais fatores de virulência e dados epidemiológicos. Semina: **Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 28, n. 2, p. 81-92, 2007.

BESSA, M. C.; COSTA, M.; CARDOSO, M. Prevalência de *Salmonella* sp. em suínos abatidos em frigoríficos do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 24, n.1, p. 80-84, 2004.

BEUTIN, L.; GEIER, D.; STEINHUCK, H.; ZIMMERMANN, S.; SCHEUTZ, F. Prevalence and some properties of Verotoxin (Shiga-like toxin)-producing *Escherichia coli* in seven different species of healthy domestic animals. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 31, n. 9, p. 2480-2488, 1993.

BOLLAERTS, K.; AERTS, M.; FAES, C.; GRIJSPEERDT, K.; DEWULF, J.; MINTIENS, K. Human salmonellosis: estimation of dose-illness from outbreak data. **Risk Analysis**, v. 28, n. 1, p. 427-440, 2008.

BOERLIN, P.; TRAVIS, R.; GYLES, C. L.; REID-SMITH, R.; JANECKO, N.; LIM, H.; NICHOLSON, V.; MCEWEN, S. A.; FRIENDSHIP, R.; ARCHAMBAULT, M. Antimicrobial Resistance and Virulence Genes of *Escherichia coli* Isolates from Swine in Ontario. **Applied Environmental Microbiology**, v. 71, n. 1, p. 6753-6761, 2005.

BOOHER, S.; CORNICK, N. A.; MOON, H. W. Persistence of *Escherichia coli* O157:H7 in experimentally infected swine. **Veterinary Microbiology**, v. 89, n. 1, p. 69-81, 2002.

BORIE, C.; MONREAL, Z.; GUERRERO, P.; SANCHEZ, M. L.; MARTINEZ, J.; ARELLANO, T. M.; PRADO, V. Prevalence and characterization of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* isolated from healthy cattle and pigs slaughtered in Santiago, Chile. **Archivos De Medicina Veterinaria**, v. 29, n. 1, p. 205-212, 1997.

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

BRASIL. Doenças Transmitidas por Alimentos. Disponível em: <www.saude.gov.br/svs>. Acesso em: 23 abril. 2015.

BRASIL. Manual técnico de diagnóstico laboratorial da *Salmonella* spp. Ministério da Saúde, Série A. Normas e Manuais Técnicos: 1ª edição, 2011.

BRENNER, F. W.; VILLAR, R. G.; ÂNGULO, F. J.; TAUXE, R. SWAMINATHAN, B. *Salmonella* nomenclature. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 38, n. 1, p. 2465-2467, 2000.

BURCH, D. G. S. Controlling diarrhoea in growing pigs - the grey scour syndrome. **Pig Journal**, v.45, n.1, p.131-149, 2000.

CALAYAG, A. M. B.; PACLIBARE, P. A. C.; SANTOS, P. D. M.; BAUTISTA, C. A. C.; RIVERA, W. L. Molecular characterization and antimicrobial resistance of *Salmonella enterica* from swine slaughtered in two different types of Philippine abattoir. **Food Microbiology**, v. 65, n. 1, p. 51-56, 2017.

CALLAWAY, T. R.; ANDERSON, R. C.; TELLEZ, G.; ROSARIO, C.; NAVA, G. M.; ESLAVA, C.; BLANCO, M. A.; QUIROZ, M. A.; OLGUIN, A.; HERRADORA, M.; EDRINGTON, T. S.; GENOVESE, K. J.; HARVEY, R. B.; NISBET, D. J. Prevalence of *Escherichia coli* O157 in Cattle and Swine in Central Mexico. **Journal of Food Protection**, v. 67, n. 10, p. 2274–2276, 2004.

CAMPOS, L. C.; FRANZOLIN, M. R.; TRABULSI, L. R. Diarrheagenic *Escherichia coli* among the traditional enteropathogenic *E. coli* groups – a review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, n. 6, p. 545-552, 2004.

CARDOSO, M. O que representam os suínos na transmissão de zoonoses para humanos? **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 37, n. 1, p. 81-89, 2009.

CARRASCO, E.; MORALES-RUEDA, A.; GARCIA-GIMENO, R. M. Cross-contamination and recontamination by *Salmonella* in foods: a review. **Food Research International**, v. 45, n. 1, p. 545-556, 2012.

CASTAGNA, S. M. F.; BESSA, M. C.; CARVALHO, D. A.; CARDOSO, M.; COSTA, M. Resistência a antimicrobianos de amostras de *Salmonella* sp. isoladas de suínos abatidos no estado do Rio Grande do Sul. **Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS**, v. 29, n. 1, p. 44-49, 2001.

CDC 2013. **Centers for Disease Control**, National *Salmonella* Surveillance Annual Report - Appendices, 2013. US Department of Health and Human Services, CDC, Atlanta, GA, p.1-89.

CDC 2014. **Centers for Disease Control**, Human Isolates Final Report, 2012, National Antimicrobial Resistance Monitoring System for Enteric Bacteria (NARMS), p.12-26.

CHENG, D.; SUN, H.; XU, J.; GAO, S. PCR Detection of Virulence Factor Genes in *Escherichia Coli* Isolates from Weaned Piglets with Edema Disease And/or Diarrhea in China. **Veterinary Microbiology**, v. 115, n. 4, p. 320–328, 2006.

CLEARY, J.; LAI, L. C.; SHAW, R. K.; IWANOWSKA, A. S.; DONNENBERG, M. S.; FRANKEL, G.; KNUTTON, S. Enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) adhesion to intestinal epithelial cells: role of bundle-forming pili (BFP), EspA filaments and intimin. **Microbiology**, v. 150, n. 3, p.527-538, 2004.

CLERMONT, O.; BONACORSI, S.; BINGEN, E. Rapid and simple determination of 3. *Escherichia coli* phylogenetic group. **Applied Environmental Microbiology**, v. 66, n.1, p. 4555-4558, 2000.

CORNICK, N. A; HELGERSON, A. F. Transmission and infectious dose of *Escherichia coli* O157:H7 in swine. **Applied Environmental Microbiology**, v. 70, n. 1, p. 5331–5335, 2004.

COSTA, F. S. **Diagnóstico da cadeia produtiva do suíno: produção e comercialização no Pará**. 59 f. 2009. TCC (Especialização em Economia e Desenvolvimento Regional)-Universidade Federal do Pará, Belém, 2009.

COSTA, M. M.; SILVA, M. S.; SPRICIGO, D. A.; WITT, N. M.; MARCHIORO, S. B.; KOLLING, L.; VARGAS, A. P. C. Caracterização epidemiológica, molecular e perfil de resistência aos antimicrobianos de *Escherichia coli* isoladas de criatórios suínos do sul do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 26, n. 1, p. 5-8, 2006.

CROXEN, M. A.; FINLAY, B. B. Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. **Nature**, v. 8, n. 1, p. 20-38, 2010.

DEBROY, C.; MADDOX, C. W. Identification of virulence attributes of gastrointestinal *Escherichia coli* isolates of veterinary significance. **Animal Health Research Reviews**. v. 2, n. 2, p. 129-140, 2001.

DUBREUIL, J. D. *Escherichia coli* STb toxin and colibacillosis: knowing is half the battle. **FEMS Microbiology Letters**, v. 278, n. 1, p. 137-145, 2008.

DUGGAN, S. J.; MANNION, C.; PRENDERGAST, D. M.; LEONARD, N.; FANNING, S.; GONZALES-BARRON, U.; EGAN, J.; BUTLER, F.; DUFFY, G. Tracking the *Salmonella* status of pigs and pork from Lairage through the slaughter process in the Republic of Ireland. **Journal of Food Protection**, v. 73, n. 12, p. 2148-2160, 2010.

EFSA 2014. The European Union Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2012. European Food Safety Authority, **EFSA J.** 12:23-51.

ENG, S.; PUSPARAJAH, P.; MUTALIB, N. A.; SER, H.; CHAN, K.; LEE, L. *Salmonella*: A review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance. **Frontiers in Life Science**, v. 8, n. 3, p. 284-293, 2015.

ERCOLI, S.; FARNETI, S.; RANUCCI, D.; SCUOTA, S.; BRANCIARI, R. Role of Verocytotoxigenic *Escherichia Coli* in the Swine Production Chain. **Italian Journal of Food Safety**, v. 4, n.2, p. 51-56, 2015.

EWING, W. H. Edwards and Ewing's identification of enterobacteriaceae. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 36, n. 4, p. 581-582, 1986.

FAIRBROTHER, J. M.; GYLES C. L.; Cobacillosis. In: ZIMMERMAN, J.J.; KARRIKER, L. A.; RAMIREZ, A.; SCHWARTZ, G. W. S. (Eds.) **Diseases of Swine**. 10. ed. Ames: John Wiley & Sons, Inc., 2012. p. 723-49.

FARZAN, A.; FRIENDSHIP, R. M. A clinical field trial to evaluate the efficacy of vaccination in controlling *Salmonella* infection and the association of *Salmonella*-shedding and weight gain in pigs. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 74, n, 4, p. 258–63, 2010.

- FEDER, I.; WALLACE, F. M.; GRAY, J. T.; FRATAMICO, P.; FEDORKA-CRAY, P. J.; PEARCE, R. A. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from intact colon fecal samples of swine. **Emerging Infectious Diseases**, v. 9, n. 3, p. 380–383, 2003.
- FORSHELL, L. P.; WIERUP, M. Salmonella contamination: a significant challenge to the global marketing of animal food products. **Revue Scientifique Et Technique**, v. 25, n. 1, p. 541-554, 2006.
- FORSYTHE, S. J. Microorganismos causadores de doenças de origem alimentar. In: **Microbiologia e Segurança Alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2002. p. 162–164.
- FRANCIS, D. H. Enterotoxigenic *Escherichia coli* infection in pigs and its diagnosis. **Journal of Swine Health and Productio**, v. 10, n. 4, p. 171-175, 2002.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu. 182 p., 2008.
- FRANCO, R. M.; MANTILLA, S. P. S.; GOUVÊA, R.; OLIVEIRA, L. A. T. Resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* isoladas de carne e dejetos suínos. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 4, n. 1, p. 31-36, 2010.
- FUNK, J. A.; DAVIES, P. R.; GEBREYES, W. A. Risk factors associated with Salmonella enterica prevalence in three-site production systems in North Carolina, USA. **Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift**, v. 114, n. 9-10, p. 335–338, 2001.
- GALVÃO, E. U. P.; VILLAR, R. L. L.; MENEZES, A. J. E. A.; SANTOS, A. A. R. Análise de renda e de mão-de-obra nas unidades agrícolas familiares da comunidade de Nova Colônia, Município de Capitão-Poço, Pará. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 46, n. 1, p.29-39, 2006.
- GIBOTTI, A.; TANAKA, T. L.; OLIVEIRA, V. R.; TADDEI, C. R.; MARTINEZ, M. B. Molecular characterization of enteroinvasive *Escherichia coli* ipa genes by PCR-RFLP analysis. **Brazilian Journal Microbiology**, v. 35, n. 1-2, p. 74-80, 2004.
- GILLESPIE, I. A.; O'BRIEN, S. J; ADAK, G. K; WARD, L. R. SMITH, H. R. Foodborne general outbreaks os Salmonella Enteritidis phage type 4 infection England and Wales 1992-2002: where are therisks? **Epidemiology and Infection**, v. 133, n. 1, p. 759–801, 2005.
- GIRARDINI, L. K.; SIQUEIRA, F. M.; KREWER, C. C.; KREWER, C. C.; DA COSTA, M. M.; VARGAS, A. C. Phylogenetic and pathotype analysis of *Escherichia coli* swine isolates from Southern Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 5, p. 374-378, 2012.
- GOMES-NEVES, E.; ANTUNES, P.; TAVARES, A.; THEMUDO, P.; CARDOSO, M. F.; GARTNER, F.; COSTA, J. M.; PEIXE, L. Salmonella cross-contamination in swine abattoirs in Portugal: carcasses, meat and meat handlers. **International Journal Food Microbiology**, v. 157, n.1, p. 82-87, 2012.
- GRASSL, G. A.; FINLAY, B.B. Pathogenesis of enteric Salmonella infections. **Current opinion in gastroenterology**, v. 24, n. 1, p. 22-26, 2008.

GUERRA FILHO, J. B. P.; YAMATOOGI, R. S.; POSSEBON, F. S.; FERNANDES, S. A.; TIBA-CASAS, M. R.; LARA, B. H. B.; RIBEIRO, M. G. Frequency, serotyping and antimicrobial resistance pattern of *Salmonella* from feces and lymph nodes of pigs. **Pesquisa Veterinária Brasileira** v. 36, n. 12, p. 1165-1170, 2016.

GUPTA, S. K.; KECK, J.; RAM, P. K.; CRUMP, J. A.; MILLER, M. A.; MINTZ, E. D. Analysis of data gaps pertaining to enterotoxigenic *Escherichia coli* infections in low and medium human development index countries, 1984–2005. **Epidemiology Infection**, v. 136, n. 721–738, 2008.

HAIMOVICH, B.; VENKATESA, M. M. Shiguella e *Salmonella*: death as a means of survival. **Microbes and Infection**, v. 8, n. 2, p. 568-577, 2006.

HARRINGTON, S. M.; DUDLEY, E. G.; NATARO, J. P. Pathogenesis of enteroaggregative *Escherichia coli* infection. **FEMS Microbiology Letters**, v. 254, n. 1, p.12–18, 2006.

HENTON, M. M.; HUNTER, P. **E. coli infections** In: COET- ZER, J. A. W.; TUSTIN, R. C. (Eds.), *Infectious disease of livestock*. 5 ed. New York: Oxford university Press, 1994. p.1085-1099.

HUANG, D. B.; OKHUYSEN, P. C; JIANG, Z. D.; DUPONT, H. L. Enteroagreggative *Escherichia coli*: an emerging enteric pathogen. **The American Journal Gastroenterology**, v. 99, n. 1, p. 383-389, 2004.

HUR, J.; JAWALE, C.; LEE, J. H. Antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from food animals: A review. **Food Research International**. v. 45, n. 2, p. 819-830, 2012.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Banco de Dados Agregados**. 2012. Disponível em: <[http:// www.sidra.ibge.gov.br /bda/pecua/default.asp](http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pecua/default.asp)>. Acesso: 10 dez 2014.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 712 p.

JENKINS, C.; VAN IJPEREN, C.; DUDLEY, E. G.; CHART, H.; WILLSHAW, G. A.; CHEASTY, T.; SMITH, H. R.; NATARO, J. P. Use of a microarray to assess the distribution of plasmid and chromosomal virulence genes in strains of enteroaggregative *Escherichia coli*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 253, n.1, p.119-124, 2005.

JOHNSON, T. J.; NOLAN, L. K. Pathogenomics of the Virulence Plasmids of *Escherichia Coli*. **Microbiology and molecular biology reviews**, v. 73, n. 4, p. 750–74, 2009.

KABAGAMBE, E. K.; WELLS, S. J.; GARBER, L. P.; SALMAN, M. D.; WAGNER, B.; FEDORKA-CRAY, P. J. Risk factors for fecal shedding of *Salmonella* in 91 US dairy herds in 1996. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 43, n. 3, p. 177–194, 2000.

KAPER, J. B.; NATARO, J. P.; MOBLEY, H. L. Pathogenic Escherichia coli. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, n. 2, p. 123-140, 2004.

KATOULI, M. Population structure of gut Escherichia coli and its role in development of extra-intestinal infections. **Iranian Journal of Microbiology**, v. 2, n. 2, p. 59-72, 2010.

KICH, J. D.; COLDEBELLA, A.; MORÉS, N.; NOGUEIRA, M. G.; CARDOSO, M.; FRATAMICO, P. M.; CALL, J. E.; FEDORKA-CRAY, P.; LUCHANSKY, J. B. Prevalence, distribution, and molecular characterization of Salmonella recovered from swine finishing herds and a slaughter facility in Santa Catarina, Brazil. **International Journal of Food Microbiology**, v.151, p.307-313, 2011.

KOBAYASHI, H.; KHAI, L. T. L.; PHAN, T. T.; YAMASAKI, S. ; TANIGUCHI, T. Prevalence of Pathogenic Escherichia coli in a Swine Breeding Environment in Can Tho Province, Vietnam. **Japan Agricultural Research Quarterly**, v. 37, p. 59-63, 2003.

KOCH, C.; HERTWIG, S.; LURZ, R.; APPEL, B.; BEUTIN, L. Isolation of a lysogenic bacteriophage carrying the stx1OX3 gene, which is closely associated with Shiga toxin-producing Escherichia coli strains from sheeps and humans. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 39, n. 11, p. 3992-3998, 2001.

KUDVA, I. T.; STASKO, J. A. E. coli O157:H7 Found in Buffalo Meat in Retail. **BMC Veterinary Research**, v. 9, n. 266, 2013.

LETELLIER, A.; BEAUCHAMP, G.; GUEVREMONT, E.; D'ALLAIRE, S.; HURNIK, D.; QUESSY, S. Risk factors at slaughter associate with presence of Salmonella on hog carcasses in Canada. **Journal Food**, v. 72, n. 1, p. 2326-2331, 2009.

LIEBANA, E.; GARCIA-MIGURA, L.; CLOUTING, C.; CLIFTON-HADLEY, F. A.; BRESLIN, M.; DAVIES, R. H. Molecular fingerprinting evidence of the contribution of wildlife vectors in the maintenance of Salmonella Enteritidis in layer farms. **Journal Applied Microbiology**, v. 94, n 1, p.1024–1029, 2003.

LI, Y.; CAI, Y.; TAO, J.; KANG, X.; JIAO, J.; GUO, R.; WANG, G.; PAN, Z.; JIAO, X. Salmonella isolated from the slaughterhouses and correlation with pork contamination in free market. **Food Control**, v. 59, n. 1, p. 591–600, 2016.

LIU, Y.; WANG, T.; WALSH, T. R.; YI, L. X.; ZHANG, R.; SPENCER, J DOI, Y.; TIAN, G.; DONG, B.; HUANG, X.; YU, L. F.; GU, D.; REN, H.; CHEN, X.; LV, L.; HE, D.; ZHOU, H.; LIANG, Z.; LIU, J. H.; SHEN, J. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: A microbiological and molecular biological study. **The Lancet Infectious Diseases**, v.16, n. 2, p. 161-168, 2016.

LÓPEZ, F. E.; PESCARETTI, M. L.M.; MORERO, R.; DELGADO, M. A. Salmonella Typhimurium general virulence factors: A battle of David against Goliath?. **Food Research International**, v. 45, n. 2, p. 842–851, 2012.

MAINIL, J. G.; DAUBE, G. Verotoxigenic Escherichia coli from animal, humans and foods:who's who? **Journal of Applied Microbiology**, v. 99, n. 6, p. 1332-1344, 2005.

MAJOWICZ, S. E.; MUSTO, J.; SCALLAN, E.; ÂNGULO, F. J.; KIRK, M.; O'BRIEN, S. J.; JONES, T. F.; FAZIL, A.; HOEKSTRA, R. M. The global burden of nontyphoidal Salmonella gastroenteritis. **Clinical Infectious Diseases**, v. 50, n. 6, p. 882–889, 2010.

MARIER, E. A.; SNOW, L. C.; FLOYD, T.; MCLAREN, I. M.; BIANCHINI, J.; COOK, A. J.; DAVIES, R. H. Abattoir based survey of Salmonella in finishing pigs in the United Kingdom 2006–2007. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 117, n. 3-4, p. 542–553, 2014.

MARSHALL, B. M.; LEVY, S. B. Food animals and antimicrobials: Impacts on human health. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 24, n. 4, p. 718-733, 2011.

MCGAVIN, M. D.; ZAACHARY, J., F. **Bases da patologia em veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. 1344 p.

MENIN, A.; RECK, C.; SOUZA, D.; KLEIN, C.; VAZ, E. 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, n. 6, 2008.

MIELE, M.; MACHADO, J. S. Panorama da carne suína brasileira. **Agroanalysis**, p.36-45, 2010.

MIELE, M.; SANTOS FILHO, J. I. S.; MARTINS, F. M.; SANDI, A. J. O desenvolvimento da suinocultura brasileira nos últimos 35 anos. In: SOUZA, J. C. P. V. B.; TALAMINI, D. J. D.; SCHEUERMANN, G. N.; SCHIMIDT G. S. **Sonho, desafio e tecnologia - 35 anos de contribuições da Embrapa Suínos e Aves**. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2011. p. 85-101.

MINAGAWA, C. W. **Estudo microbiológico fecal de linhagens de camundongos, de estirpe de E. coli e do meio ambiente em biotérios**. 2007. 108 f. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, São Paulo

MORENO, A. C.; FILHO, A. F.; GOMES, T. A.; RAMOS, S. T.; MONTEMOR, L. P.; TAVARES, V. C.; FILHO, L. S.; IRINO, K.; MARTINEZ, M. B. Etiology of childhood diarrhea in the northeast of Brazil: significant emergent diarrheal pathogens. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 66, n. 1, p. 50-57, 2010.

MOULIN-SCHOULEUR, M.; RÉPÉRANT, M.; LAURENT, S.; BRÉE, A.; MIGNON-GRASTEAU, S.; GERMON, P.; RASSCHAERT, D.; SCHOULER, C. Extraintestinal pathogenic Escherichia coli strains of avian and human origin: Link between phylogenetic relationships and common virulence patterns. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 45, n. 10, p. 3366-3376, 2007.

MOXLEY, R. A.; SMITH, D.R. Attaching-effacing Escherichia coli Infections in Cattle. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 26, n. 1, p. 29-56, 2010.

NAKAZAWA, M.; AKIBA, M.; SAMESHIMA, T. Swine as a potential reservoir of shiga toxin-producing Escherichia coli O157:H7 in Japan. **Emerging Infectious Diseases**, v. 5, n. 6, p. 833–834, 1999.

NANCY, A.; CORNICK, A. F. HELGERSON. Transmission and Infectious Dose of *Escherichia coli* O157:H7 in Swine. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, n. 9, p. 5331–5335, 2004.

NATARO, J. P.; DENG, Y.; COOKSON, S.; CRAVIOTO, A.; SAVARINO, S. J.; GUERS, L. D.; LEVINE, M. M.; TACKET, C. O. Heterogeneity of enteroaggregative *Escherichia coli* virulence demonstrated in volunteers. **Journal of Infectious Diseases**, v. 171, n. 2, p. 465–8, 1995.

NATARO, J. P.; KAPER, B. Diarrheagenic *Escherichia coli*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 11, n. 1, p. 142–201, 1998.

OKHUYSEN, P. C.; DUPONT, H. L. *Escherichia coli* (EAEC): A Cause of Acute and Persistent Diarrhea of Worldwide Importance. **Journal of Infectious Diseases**, v. 202, n. 4, p. 503–505, 2010.

OLIVEIRA, S. J. **Guia Bacteriológico Prático**. Canoas, RS: Ulbra, v. 2. 2000.

PARK, J. P., RYU, S. Prevalence of Antivirotic Resistant Strains among Bacteria Isolated from Bovine Mastitis, Swine Diarrhea, and Swine Pneumonia. **Korean Journal of Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 28, n. 3, p. 189–194, 2000.

PATON, J. C.; PATON, A. W. Pathogenesis and diagnosis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 11, n. 3, p. 450–479, 1998.

PENA, A.; SERRANO, C.; RÉU, C.; BAETA, L.; CALDERÓN, V.; SILVEIRA, I.; SOUSA, J. C.; PEIXE, L. Antibiotic residues in edible tissues and antibiotic resistance of faecal *Escherichia coli* in pigs from Portugal. **Food Additive Contamination**, v. 21, n. 8, p. 749–755, 2004.

PUI, C. F.; WONG, W. C.; CHAI, L. C.; NILLIAN, E.; GHAZALI, F. M.; CHEAH, Y. K.; NAKAGUCHI, Y.; NISHIBUCHI, M.; RADU, S. Simultaneous detection of *Salmonella* spp., *Salmonella* Typhi and *Salmonella* Typhimurium in sliced fruits using multiplex PCR. **Food Control**, v. 22, n. 2, p. 337–342, 2011.

QUINN P. J.; MARKEY, B.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J.; LEONARD, F. C. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre: Artmed, p.115–130, 2005.

RABSCH, W.; ANDREWS, H. L.; KINGSLEY, R. A.; PRAGER, R.; TSCHÄPE, H.; ADAMS, L. G.; BÄUMLER, A. J. *Salmonella enterica* Serotype Typhimurium and Its Host-Adapted Variants. **Infection and Immunity**, v. 70, n. 5, p. 2249–2255, 2002.

RADOSTITS, O. M.; Blood, D. C.; GAY, C. C. **Clínica Veterinária: Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2002. 1737 p.

RANGEL, J. M.; SPARLING, P. H.; CROWE, C.; GRIFFIN, P. M.; SWERDLOW, D. L. Epidemiology of *Escherichia coli* O157: H7 outbreaks, United States, 1982–2002. **Emerging Infectious Diseases**, v. 11, n. 4, p. 603–609, 2005.

REGUA-MANGIA, A. H.; GOMES, T. A. T.; VIEIRA, M. A. M.; IRINO, K.; TEIXEIRA, L. M. Molecular typing and virulence of enteroaggregative *Escherichia coli* strains isolated from children with and without diarrhea in Rio de Janeiro City, Brazil. **Journal of Medical Microbiology**, v. 58, n. 4, p. 414-422, 2009.

ROCHA, S. L. S. **Detecção de fatores de virulência de amostras de *Escherichia coli* isoladas de granjas avícolas do RS através do Multiplex PCR**. Dissertação de Mestrado. 2008. 68 f. Universidade do Rio Grande do Sul.

ROSTAGNO, M. H.; CALLAWAY, T. R. Pre-harvest risk factors for *Salmonella enterica* in pork production. **Food Research International**, v. 45, n. 2, p. 634-640, 2012.

SANTOS, R. L.; ALESSI, A. C. **Patologia Veterinária**. 1. ed. São Paulo: Roca, 2010. p. 423.

SATO, J. P. H.; TAKEUTI, K. L.; DANIEL, A. G. S.; KOERICH, P. K. V.; BERNARDI, M. L.; BARCELLOS, D. E. S. N. Associação entre fatores de virulência e resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* enterotoxigênicas isoladas de leitões com diarréia no Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 43, n. 1, p. 1-7, 2015.

SCHMIDT, V.; CARDOSO, M. R. I. Sobrevivência e perfil de resistência a antimicrobianos de *Salmonella* sp. isoladas em um sistema de tratamento de dejetos de suínos. **Ciência Rural**, v.33, n. 5, p. 881-888, 2003.

SCHNEIDER, R. N.; NADVORNY, A.; SCHMIDT, V. Perfil de resistência antimicrobiana de isolados de *Escherichia coli* obtidos de águas superficiais e subterrâneas, em área de produção de suínos. **Biotemas**, v. 22, n. 3, p. 11-17, 2009.

SHERLEY, M.; GORDON, D. M.; COLLIGNON, P. J. Evolution of multi-resistance plasmids in Australian clinical isolates of *Escherichia coli*. **Microbiology**. v.150, n. 5, p. 1539-1546, 2004.

SILVA, F. F. P.; SANTOS, M. A. A.; SCHMIDT, V. Resistência a antimicrobianos de *Escherichia coli* isolada de dejetos suínos em esterqueiras. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 3, p. 762-765, 2008.

SILVA, M. C.; FARIA, G. S.; PAULA, D. A. J.; MARTINS, R. P.; CARAMORI JUNIOR, J. G.; KICH, J. D.; COLODEL, E. M.; NAKAZATO, L.; DUTRA, V. Prevalência de *Salmonella* sp. em suínos abatidos no Estado de Mato Grosso. **Ciência Rural**, v. 39, n.1, p. 266-268, 2009.

SILVA, J. A.; SILVA, D. *Escherichia coli* enteropatogênica (EPEC) ao contrário da *Escherichia coli* comensal, adere, sinaliza e lesa enterócitos. **Revista de Patologia Tropical**, v. 34, n. 3, p.175-196, 2005.

SILVA, R. M.; TOLEDO, M. R.; TRABULSI, L. R. Biochemical and cultural characteristics of invasive *Escherichia coli*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 11, n. 5, p. 441-444, 1980.

SKOV, R. L.; MONNET, D. L. Plasmid-mediated colistin resistance (*mcr-1* gene): three months later, the story unfolds. **EuroSurveill**, v. 21, n. 9, p. 30155, 2016.

STRAW, B. Causes and controlo f sow losses. *Modern Veterinary Practice*, v. 65, n. 5, p.349-353, 1984.

STROHL, W. A.; ROSE, H.; FISHER, B. D. Bacilos Entéricos Gram-Negativos in: **Microbiologia Ilustrada**. 1 ed. Porto Alegre: Art Méd, 2004, p. 189-204.

SYDOW, A. C. M. D. G. V. **Avaliação da ocorrência de fatores de virulência em estirpes de Escherichia coli em fezes de cães errantes**. 2005. 89 f. Dissertação de Mestrado.Universidade de São Paulo.

TANIH, N. F.; SEKWADI, E.; ROLAND N. N.; PASCAL, O. B. Detection of Pathogenic Escherichia coli and Staphylococcus aureus from Cattle and Pigs Slaughtered in Abattoirs in Vhembe District, South Africa. **The Scientific World Journal**, v. 2015, n.1, p.1-8, 2015.

TENG, L. J.; HSUEH, P. R.; LIAW, S. J.; HO, S. W.; TASAI, J. C. Genetic detection of diarrheagenic Escherichia coli isolated from children with sporadic diarrhea. **Journal of Microbiology Immunology Infection**, v. 37, n. 6, p. 327-334, 2004.

TORRES, A. G.; ZHOU, X.; KAPER, J. B. Adherence of diarrheagenic Escherichia coli strains to epithelial cells. **Infection and Immunity**, v. 73, n. 1, p. 18-29, 2005.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, L. F. *Microbiologia*. 6 ed. São Paulo: Atheneu, 2016, p.215-228.

TRABULSI, L. R.; SAMPAIO, M. M. C. Diarréia por Escherichia coli enterohemorrágica (EHEC). **Estudos Avançados**, v. 13, n. 35, p. 116-117, 1999.

TROTZ-WILLIAMS, L. A.; MERCER, N. J.; WALTERS, J. M.; MAKI, A. M.; JOHNSON, R. P. Pork implicated in a Shiga toxinproducing Escherichia coli O157: H7 outbreak in Ontario, Canada. **Canadian Journal of Public Health**, v.103, n. 5, p. 322–326, 2002.

UBER, A. P.; TRABULSI, L. R.; IRINO K. BEUTIN, L.; GHILARDI, A. C; GOMES, T. A; LIBERATORE, A. M.; CASTRO, A. F; ELIAS, W. P. Enteroaggregative Escherichia coli from humans and animals differ in major phenotypical traits and virulence genes. **FEMS Microbiology Letters**, v. 256, n. 2, p. 251–257, 2006.

UD-DIN, A.; SYEDA, W. Relationship among Shigella spp. and enteroinvasive Escherichia coli (EIEC) and their differentiation. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 45, n. 4, p. 1131-1138, 2014.

VAN DEN BELD, M. J. C.; REUBSAET, F. A. G. Differentiation between *Shigella*, enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC) and noninvasive *Escherichia coli*. **European Journal of Clinical Microbiology e Infectious Diseases**. v. 31, n. 6, p. 899–904, 2012.

VAN HOEK, A. H. A. M.; DE JONGE, R.; VAN OVERBEEK, W. M.; BOUW, E.; PIELAAT, A.; SMID, J. H.; MALORNY, B.; JUNKER, E.; LÖFSTRÖM, C.; PEDERSEN, K.; AARTS, H. J.; HERES, L. A quantitative approach towards a better understanding of the dynamics of Salmonella spp. in a pork slaughter-line. **International Journal of Food Microbiology**, v. 153, n. 1-2, p. 45–52, 2012.

VIAL, P. A.; ROBINS-BROWNE, R.; LIOR, H.; PRADO, V.; KAPER, J. B.; NATARO, J. P.; MANEVAL, D.; ELSAYED, A.; LEVINE, M. M. Characterization of enteroadherent-aggregative *Escherichia coli*, a putative agente of diarrheal disease. **Journal of Infectious Diseases**, v. 158, n. 1, p. 70-79.

VIEIRA, N.; BATES, S. J.; SOLBERG, O. D.; PONCE, K.; HOWSMON, R.; CEVALLOS, W.; TRUEBA, G.; RILEY, L.; EISENBERG, J. N. High prevalence of enteroinvasive *Escherichia coli* isolated in a remote region of northern coastal Ecuador. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 76, n. 3, p. 528-532, 2007.

VU, D. T. V. D.; SETHABUTR, O.; VON SEIDLEIN, L.; TRAN, V. T.; DO, G. C.; BUI, T. C.; LE, H. T.; LEE, H.; HOUNG, H. S.; HALE, T. L.; CLEMENS, J. D.; MASON, C.; DANG, D. T. Detection of *Shigella* by a PCR assay targeting the *ipaH* gene suggests increased prevalence of shigellosis in Nha Trang, Vietnam. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, n. 5, p. 2031-2035, 2004.

WATANABE, T. T. N.; ZLOTOWSKI, P.; OLIVEIRA, L. G. S; ROLIM, V. M.; GOMES, M. J. P.; SNEL, G.; DRIEMEIER, D. Rectal stenosis in pigs associated with *Salmonella* Typhimurium and porcine circovirus type 2 (PCV2) infection. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 6, p. 511-515.

WEINTRAUB, A. Enteroaggregative *Escherichia coli*: Epidemiology, virulence and detection. **Journal of Medical Microbiology**, v. 56, n. 1, p. 4-8, 2007.

WHO. Salmonella. Disponível em: <<http://www.who.int/topics/salmonella/en/>>. Acesso em: 7 maio. 2015.

WILLS, R. W. Diarrhea in growing-finishing swine. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 16, n. 1, p. 175-185, 2000.

ZHANG, W.; ZHAO, M.; RUESCH, L.; OMOT, A.; FRANCIS, D. Prevalence of Virulence Genes in *Escherichia Coli* Strains Recently Isolated from Young Pigs with Diarrhea in the US. **Veterinary microbiology**, v. 123, n. 1-3, p. 145-52, 2007.

ZHU, C.; HAREL, J.; JACQUES, M.; DESAUTELS, C.; DONNENBERG, M. S.; BEAUDRY, M.; FAIRBROTHER, J. M. Virulence properties and attaching-effacing activity of *Escherichia coli* O45 from swine postweaning diarrhea. **Infection and Immunity**, v. 62, n. 10, p. 4153-4159, 1994.

ZLOTOWSKI, P.; DRIEMEIER, D.; BARCELLOS, D. E. S. N. Patogenia das diarréias dos suínos: modelos e exemplos. **Acta Scientiae Veterinariae**. v. 36, n. 1, p. 81-86, 2008.

ZWEIFEL, C.; SCHUMACHER, S.; BEUTIN, L.; BLANCO, J.; STEPHAN, R. Virulence Profiles of Shiga Toxin 2e-Producing *Escherichia Coli* Isolated from Healthy Pig at Slaughter. **Veterinary microbiology**, v. 117, n. 2-4, p. 328-32, 2006.

YATES, C. M.; PEARCE, M. C.; WOOLHOUSE, M. E.; AMYES, S. G. High frequency transfer and horizontal spread of apramycin resistance in calf faecal *Escherichia coli*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 54, n. 2, p. 534-537, 2004.

5 CAPÍTULO I

***Escherichia coli* enterohemorrágica e perfil de resistência antimicrobiana de suínos, criados na Amazônia oriental, Brasil**

Artigo submetido na Revista de Ciências Agrárias da UFRA

[RCA/AJAES] Agradecimento pela submissão Caixa de entrada x



Rafaelle Fazzi Gomes <ajaes.suporte@gmail.com>

sáb, 3 de ago 14:23 (há 4 dias)



para eu ▾

Suellen da Gama Barbosa Monger,

Agradecemos a submissão do trabalho "Escherichia coli enterohemorrágica e perfil de resistência antimicrobiana de suínos, criados na Amazônia oriental, Brasil" para a revista Revista de Ciências Agrárias Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences. Acompanhe o progresso da sua submissão por meio da interface de administração do sistema, disponível em:

URL da submissão: <https://periodicos.ufra.edu.br/index.php/ajaes/authorDashboard/submission/3149>

Login: suellenmonger

Em caso de dúvidas, entre em contato via e-mail.

Agradecemos mais uma vez considerar nossa revista como meio de compartilhar seu trabalho.



***Escherichia coli* enterohemorrágica e perfil de resistência antimicrobiana de suínos, criados na Amazônia oriental, Brasil**

Enterohemorrhagic *Escherichia coli* and antimicrobial resistance profile of swines reared in eastern Amazonia, Brazil

Suellen da Gama Barbosa Monger^{1*}, Daniela Cristiane da Cruz Rocha², Débora de Castro Costa³, Washington Luiz Assunção Pereira⁴

^{1, 4} Universidade Rural da Amazônia (UFRA), ISPA- Instituto de Saúde e Produção Animal, Avenida Presidente Tancredo Neves, 2501, 66.077-830, Belém, Pará, Brasil.

^{2, 3} Instituto Evandro Chagas (IEC)- Laboratório de enterobactérias, Rodovia BR-316 km 7 s/n, 67030-000, Levilândia, Pará, Brasil.

Resumo: A suinocultura da região Norte apresenta pouca atenção aos cuidados higiênico-sanitários, favorecendo infecções bacterianas entéricas responsáveis por grande impacto na indústria de suínos, além do risco para a saúde coletiva. No ecossistema amazônico, pouco se conhece a respeito da ocorrência de enterobactérias em suínos destinados ao abate. Deste modo, objetivou-se investigar a ocorrência de *Escherichia coli* patogênicas (enterohemorrágica) em suínos criados no Estado do Pará, além de verificar o perfil de resistência à antimicrobianos dessas cepas patogênicas. Foram colhidas 200 amostras de fezes (*swab* retal) de suínos procedentes de 15 propriedades localizadas em Belém e Nordeste paraense e processadas no Laboratório de Enterobactérias do Instituto Evandro Chagas, Ananindeua, PA. As amostras foram semeadas nos caldos EC e GN, incubadas e a seguir em Ágar MacConkey. As colônias suspeitas foram identificadas em Ágar Ferro Três Açúcares para posterior caracterização bioquímica. A caracterização do patótipo foi realizada através da técnica da PCR (*Polymerase Chain Reaction*) Multiplex. A susceptibilidade aos agentes antimicrobianos dos isolados foi avaliada utilizando o sistema automatizado VITEK[®] 2 Compact (bioMérieux). Das 15 propriedades estudadas, em seis verificou-se a *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), sendo isolada em 11% (22/200) dos animais pesquisados. Amostras de oito isolados apresentaram resistência a antimicrobianos: uma para trimetoprim-sulfametoxazol e ácido nalidíxico, quatro para trimetoprim-sulfametoxazol e ampicilina e outras três para ácido nalidíxico. Deste modo, foi possível verificar a ocorrência de *Escherichia coli* enterohemorrágica em suínos criados no Estado do Pará,

além da resistência dessas cepas patogênicas a alguns antimicrobianos bastante utilizados na rotina veterinária.

Palavras-chave: suinocultura, enteropatógenos, *E. coli*

Abstract: The swine industry in the northern region has little attention to hygienic-sanitary care, favoring enteric bacterial infections that have a major impact on the pig industry, besides the risk to public health. In the Amazonian ecosystem, little is known about the occurrence of enterobacteria in slaughter pigs. Thus, the objective of this study was to investigate the occurrence of pathogenic (enterohemorrhagic) *Escherichia coli* in pigs raised in the State of Pará, and to verify the antimicrobial resistance profile of these pathogenic strains. 200 swine fecal swine samples were collected from 15 farms located in Belém and Northeastern Pará and processed at the Evandro Chagas Institute Enterobacterial Laboratory, Ananindeua, PA. Samples were seeded in EC and GN broths, incubated and then on MacConkey Agar. Suspected colonies were identified on Iron Three Sugar Sugars for further biochemical characterization. The characterization of the pathotype was performed by PCR (Polymerase Chain Reaction) Multiplex technique. Susceptibility to antimicrobial agents of isolates was evaluated using the automated VITEK® 2 Compact system (bioMérieux). Of the 15 properties studied, six had enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC), being isolated in 11% (22/200) of the animals surveyed. Samples of eight isolates showed antimicrobial resistance: one for trimethoprim-sulfamethoxazole and nalidixic acid, four for trimethoprim-sulfamethoxazole and ampicillin and three for nalidixic acid. Thus, it was possible to verify the occurrence of enterohemorrhagic *Escherichia coli* in pigs raised in the State of Pará, besides the resistance of these pathogenic strains to some antimicrobials widely used in veterinary routine.

Key words: swine production, diarrhea, enteropathogens, *E. coli*

1 Introdução

A suinocultura na região Norte brasileira não tem passado por incrementos tecnológicos, caracterizando-se por pequenas propriedades com pouca atenção aos cuidados higiênico-sanitários, criando um ambiente favorável à disseminação de agentes infecciosos (Costa, 2009; IBGE, 2015).

As infecções bacterianas entéricas são responsáveis por grande impacto na indústria de suínos em todo o mundo, causando aproximadamente 30% das perdas econômicas (Burch, 2000). Além disso, alguns patógenos podem ser potencialmente zoonóticos, representando um risco para saúde coletiva (Menin et al., 2008).

Entre esses agentes pode-se citar a *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC). Também conhecida por *E. coli* produtora de toxina Shiga (STEC) ou toxina verotoxigênica (VTEC) (Zweifel et al., 2006).

Estudos experimentais e epidemiológicos sugerem que os suínos são hospedeiros biologicamente competentes e um potente reservatório de STEC (Feder et al., 2003; Cornick & Helgerson, 2004) e dessa forma, relacionados a um amplo espectro de doenças humanas (Trotz-Williams et al., 2012).

E. coli produtoras de Stx2 são consideradas importantes para suínos causando doença do edema. A lesão das células endoteliais induz o aparecimento do edema e de sinais neurotóxicos característicos da doença (Henton & Hunter, 1994; Teng et al., 2004).

Geralmente o histórico e os achados clínicos são conclusivos, sendo que o exame histopatológico do encéfalo e isolamento puro de *E. coli* patogênica no intestino permite a confirmação do diagnóstico (Sobestianski et al., 1999).

No que diz respeito ao ecossistema amazônico, pouco se conhece sobre a ocorrência desse micro-organismo em suínos destinados ao abate, e da resistência a antimicrobianos. Deste modo, esta pesquisa objetiva relatar a ocorrência de *E. coli* enterohemorrágicas em suínos criados no Estado do Pará, além de verificar o perfil de resistência a antimicrobianos destas cepas patogênicas a fim de fornecer dados que poderão ser utilizados para melhor direcionar as medidas de controle.

2 Material e Métodos

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de ética (CEUA) da Universidade Federal Rural da Amazônia - UFRA, Protocolo 038/2013, e processo 23084.010923/2013-15.

Foram analisadas amostras fecais (*swab* retal) de 200 suínos procedentes de 15 propriedades localizadas nas Mesorregiões: Metropolitana de Belém e Nordeste Paraense, sem predileção por raça, idade ou sexo, apresentando ou não diarreia.

As amostras foram processadas no Laboratório de Enterobactérias do Instituto Evandro Chagas (Ananindeua, Pará). O método utilizado para o isolamento dos microrganismos foi a coprocultura (Vu et al., 2004).

Os espécimes fecais foram semeados diretamente em Agar MacConkey MC (Difco) além dos caldos EC (Difco) e Gram negativo (GN); incubados a 35 °C por 24 horas e a seguir semeados em Ágar MacConkey - MC (Difco). As colônias com lactose positiva foram identificadas em Ágar Ferro Três Açúcares - TSI (Difco) e, posteriormente, foi realizada a caracterização bioquímica manual segundo Carter (1994) e quando necessário, utilizou-se o sistema automatizado VITEK® 2 Compact (bioMérieux).

Os isolados de *E. coli* foram estocados em Ágar Nutriente (Difco), e então procedido a extração de DNA conforme as recomendações de Baloda et al. (1995), para amplificação através da técnica da PCR.

As cepas de *E. coli* foram examinadas por PCR Multiplex para detectar os genes *eae* (intimina) e *Stx* (*Stx*-1 e *Stx*-2), além de outros genes relacionados à outras *E. coli* patogênicas. Os primers utilizados para a amplificação de 518 pb do gene *Stx* foram: **F:** GAGCGAAATAATTTATATGTG e **R:** TGATGATGGCAATTCAGTAT.

Todos os testes de PCR foram executados em um volume de 25µl, contendo 2 µl de DNA bacteriano, 9,5 µl de solução A (Tampão, dNTP, MgCl₂), 13 µl de solução Mix (Primers) e 0,5 µl de Taq DNA polimerase. A cepa padrão utilizada foi EHEC EDL 931 como controle positivo.

As reações da PCR Multiplex foram colocadas no termociclador modelo Veriti™ 96-Well Thermal Cycler (Applied Biosystems - EUA) e submetidas ao seguinte programa de amplificação: uma etapa inicial de desnaturação à 95 °C durante 5 minutos, seguidos por 40 ciclos de desnaturação (95 °C durante 1 minuto), hibridização (50 °C durante 1 minuto), e subsequente extensão (72 °C durante 1 minuto), além de extensão final (72 °C durante 7 minutos).

A visualização do produto final foi feita a partir de eletroforese em gel de agarose a 2% corado com azul de bromofenol.

A susceptibilidade aos agentes antimicrobianos dos isolados foi avaliada utilizando o sistema automatizado VITEK® 2 Compact (bioMérieux) com cartão de 21 antimicrobianos (BLSE, Ampicilina, Amoxicilina, Piperacilina/Tazobactam, Cefalotina, Cefuroxima, Cefuroxima axetil, Ceftriaxona, Cefepima, Ertapenem,

Meropenem, Amicacina, Gentamicina, ácido Nalidíxico, Ciprofloxacina, Norfloxacina, Nitrofurantoína, Trimetropim/ Sulfametoxazol), obedecendo as recomendações do Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI (2009).

3 Resultados e Discussão

Das 15 propriedades estudadas, verificou-se a *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) em seis, sendo isolada em 11% (22/200) dos animais pesquisados. Dos 22 animais em que a EHEC foi isolada, dez eram machos e 12 fêmeas. Somente cinco animais apresentavam idade superior a um ano, tendo o restante menos que quatro meses. A prevalência desse organismo em estudos anteriores (Heuvelink et al., 1999; Johnsen et al., 2001; Eriksson et al., 2003; Feder et al., 2003) foram menores (0,1 a 6%) do que o presente estudo. Esses resultados podem ser justificados devido as condições higiênico sanitárias nas criações da pesquisa quando comparadas às instalações europeias. Apesar da maioria dos animais em que a EHEC foi isolada serem fêmeas, segundo a literatura revisada, não há correlação da infecção com o sexo.

Em relação à sintomatologia clínica, oito propriedades apresentaram histórico de diarreia, inclusive com relato de morte após quadro diarreico. No momento da coleta, em duas propriedades, verificou-se diarreia; em uma, exposição da terceira pálpebra e em uma terceira propriedade ocorreu quadro neurológico seguido de morte. Além disso, 15 animais (incluindo os adultos) não demonstraram nenhum sinal clínico, bem como histórico de diarreia.

Para Nataro & Kaper (1998) e Paton & Paton (1998), a produção de uma ou mais toxinas Shiga, isoladamente, não é suficiente para causar doenças, o que pode justificar o fato de alguns animais não apresentarem sinal clínico; além disso, outros fatores intrínsecos e extrínsecos podem ter sido determinantes, como a idade, o estado imunitário, nutricional e constituição genética dos animais, transferência passiva de anticorpos específicos pelo colostro, contaminação ambiental, além de fatores estressantes como temperaturas extremas, superlotação e infecções intercorrentes por outros agentes, além da presença do plasmídeo pO157, que codifica a enterohemolisina e a produção de adesinas fimbriais e afimbriais (Santos & Alessi, 2010; Mcgavin & Zaachary, 2013); o que não foi pesquisado no presente estudo.

A prevalência de EHEC em populações de suínos clinicamente saudáveis tem sido relatada em numerosos estudos em várias regiões do mundo (Cornick & Helgerson, 2004). Segundo Meng et al. (2014), a prevalência da EHEC em suínos saudáveis é alta quando diagnosticada por PCR (25,42%). Para Rios et al. (1999), EHEC isoladas em suínos clinicamente saudáveis pode representar um risco potencial para humanos, embora Meng et al. (2014) considere esse potencial baixo, baseado na comparação dos sorotipos e presença de genes de virulência em cepas de suínos e humanas.

Na maioria dos casos positivos da mesma propriedade, os animais estavam confinados na mesma baia. Cornick & Helgerson (2004) consideram que a *E. coli* pode ser transmitida horizontalmente entre suínos alojados em condições de confinamento. Nessas condições, Cornick & Vukhac (2008) sugerem que a transmissão entre suínos para esse microrganismo ocorre através de aerossóis contaminados.

As *E. coli* patogênicas, que nos portadores sadios são eliminadas em pequena quantidade nas fezes, pouco a pouco se enriquecem nas pocilgas contaminadas, e se não forem tomadas medidas adequadas de higiene, podem ser transportadas mecanicamente para outros lugares através dos próprios animais ou fômites (Langenegger et al., 1974).

Nenhuma das propriedades em que a EHEC foi isolada apresentava contato direto entre suínos e bovinos, indicando que a infecção dessa bactéria se mantém entre a população de suínos (Cornick & Helgerson, 2004). Inclusive, em alguns trabalhos, surpreendentemente, a prevalência em amostras de suínos (10,8%) foi maior do que em bovinos (2,9%), sugerindo que suínos podem ser uma fonte importante desse organismo (Borie, 1997; Ateba & Mbewe, 2011).

Como mencionado anteriormente, em uma das propriedades havia histórico de animais jovens que após quadro neurológico, vinham a óbito depois de dois dias, no máximo. Durante a coleta nessa propriedade, um leitão, macho, com oito semanas de idade apresentava esse quadro e foi positivo para EHEC. O que corrobora com Cheng et al. (2006) que detectaram *E.coli* enterohemorrágica em suínos entre seis a 14 semanas de idade ou quatro a 15 dias após o desmame.

Os sinais neurológicos verificados foram os reportados pela literatura como incoordenação motora, andar em círculos, paresia, desequilíbrio, fraqueza, tremores, movimentos de pedalagem e convulsões, que de acordo com Cheng et al. (2006) e McGavin & Zaachary (2013) podem ocorrer por encefalomalácia simétrica focal ou

angiopatia cerebral suína; sendo a morbidade de aproximadamente 35% e mortalidade 100%.

Santos & Alessi (2010), afirmam que nos casos agudos da doença do edema, ocorre edema subcutâneo, principalmente pálpebras, orelhas, fronte, focinho e lábios, além de histórico de diarreia apresentando estrias de sangue; quadro verificado em animais de outra propriedade estudada e que foi confirmada a presença da EHEC nas fezes através da PCR.

Em relação à pesquisa de susceptibilidade a antimicrobianos, amostras de oito isolados referente à oito animais apresentaram resistência: uma para trimetoprim-sulfametoxazol e ácido nalidíxico, quatro para trimetoprim-sulfametoxazol e ampicilina e outras três para ácido nalidíxico.

Esse resultado era esperado, já a *E. coli* é uma das principais espécies onde plasmídeos contém genes envolvidos no processo de resistência múltipla aos antimicrobianos, além de possuir um intervalo entre gerações muito curto e dispor de mecanismos de transferência de material genético, características relacionadas a sua grande distribuição ambiental (Sherley et al., 2004).

Desinfetantes e suplementos alimentares podem apresentar uma importante força de seleção para bactérias resistentes numa criação de suínos (Yates et al., 2004). Entretanto, no estudo, somente 2 propriedades utilizavam desinfetantes para higienização dos galpões.

No Brasil, vários autores reportam multirresistência de *E. coli* semelhante ao presente estudo. Silva et al. (2008) observaram multirresistência em amostras de *E. coli* isoladas em esterqueiras na região de Concórdia, SC, sendo 82,3% resistente à tetraciclina, 64% ao ácido nalidíxico, 41% à ampicilina, 36% à sulfa/trimetoprima, 34% à sulfonamida, 27% ao cloranfenicol, 19% à ciprofloxacina, 16% ao cefaclor, 7,3% à estreptomicina, 1% à neomicina, 1% à amoxicilina/ácido clavulânico e 1% à amicacina.

Na mesma região, verificou-se que 86,14% das linhagens de *E. coli* isoladas em água subterrânea foram resistentes à pelo menos um dos antimicrobianos testados (ácido nalidíxico, amicacina, amoxicilina, ácido clavulânico, ampicilina, cefaclor, ciprofloxacina, cloranfenicol, estreptomicina, gentamicina, neomicina, sulfonamida, tetraciclina, tobramicina e trimetropima) (Schneider et al., 2009).

Franco et al. (2010), ao avaliarem a resistência antimicrobiana de cepas de *E. coli* isoladas de amostras de dejetos e carne suína provenientes dos Estados do Rio de

Janeiro, Minas Gerais, Paraná e Santa Catarina, verificaram resistência à pelo menos sete antibióticos (carbenicilina, ceftazidina, clindamicina, cloranfenicol, eritromicina, penicilina e rifampicina) usados rotineiramente no tratamento das enfermidades transmitidas por alimentos de todas as cepas de *E. coli* patogênicas, sendo sensíveis apenas à gentamicina e à tobramicina. Já amostras de 15 granjas localizadas nos Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, Minas Gerais e Goiás; a susceptibilidade antimicrobiana dos isolados apresentaram níveis de resistência superiores a 60% para amoxicilina, ampicilina, ciprofloxacina, enrofloxacin, estreptomicina e sulfametoxazole + trimetoprim; sendo os maiores índices (96,3%) observados para tetraciclina (Sato et al., 2015).

Na China, a maioria das *E. coli* enterohemorrágicas isoladas de suínos foram resistentes à tetraciclina (79,57%), ácido nalidíxico (78,49%) e trimetoprim-sulfametoxazol (73,12%) (Meng et. al, 2014); resultado semelhante ao encontrado em nosso estudo.

Uma das estratégias mais adotadas para prevenir e controlar diversas infecções, entre elas as enterites, tem sido a terapia antimicrobiana. Entretanto, a falta de critérios para o uso adequado e seguro dos antimicrobianos pode resultar em resíduos de antimicrobianos em produtos de origem animal, à resistência bacteriana e a sérios riscos à saúde coletiva (Baccaro et al., 2002).

4 Conclusão

Nesse estudo foram identificadas cepas de *Escherichia coli* enterohemorrágica isoladas de suínos criados no Estado do Pará; chamando atenção a heterogeneidade e a higidez dos animais acometidos, o que pode favorecer o aparecimento de diarreias nos animais e o risco de transmissão para o homem.

Além disso, verificou-se resistência e até multiresistência dessas cepas patogênicas à antimicrobianos bastante utilizados na rotina veterinária, que pode ser devido à utilização indiscriminada de antibióticos na suinocultura, surgindo uma grande preocupação a respeito da seleção de genes de resistência em bactérias presentes na microbiota de animais utilizadas como fonte de alimento e da possibilidade da transferência destes genes para bactérias do trato intestinal humano.

Referências

- ATEBA, C. N.; MBEWE, M. Detection of *Escherichia coli* O157:H7 virulence genes in isolates from beef, pork, water, human and animal species in the northwest province, South Africa: public health implications. *Research in Microbiology*, v. 162, n. 1, p. 240–248, 2011.
- BACCARO, M.R.; MORENO, A. M.; CORRÊA, A.; FERREIRA, A. J. P.; CALDERARO, F. F. Resistência antimicrobiana de amostras de *Escherichia coli* isoladas de fezes de leitões com diarreia. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 69, n. 2, p. 15-18, 2002.
- BORIE, C.; MONREAL, Z.; GUERRERO, P.; SANCHEZ, M. L.; MARTINEZ, J.; ARELLANO, T. M.; PRADO, V. Prevalence and characterization of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* isoated from healthy cattle and pigs slaughtered in Santiago, Chile. *Archivos De Medicina Veterinaria*, v. 29, n. 1, p. 205–212, 1997.
- BURCH, D. G. S. Controlling diarrhoea in growing pigs - the grey scour syndrome. *Pig Journal*. v.45, n.1, p.131-149, 2000.
- CHENG, D.; SUN, H.; XU, J.; GAO, S. PCR Detection of Virulence Factor Genes in *Escherichia Coli* Isolates from Weaned Piglets with Edema Disease And/or Diarrhea in China. *Veterinary Microbiology*, v. 115, n. 4, p. 320–328, 2006.
- CORNICK, N. A; HELGERSON, A. F. Transmission and infectious dose of *Escherichia coli* O157:H7 in swine. *Applied Environmental Microbiology*, v. 70, n. 1, p. 5331–5335, 2004.
- CORNICK, N.A.; VUKHAC, H. Indirect Transmission of *Escherichia coli* O157:H7 occurs readily among swine but not among sheep. *Applied and environmental Microbiology*, v. 74, n., p. 2488–2491, 2008.
- COSTA, F. S. *Diagnóstico da cadeia produtiva do suíno: produção e comercialização no Pará*. 59 f. 2009. TCC (Especialização em Economia e Desenvolvimento Regional)- Universidade Federal do Pará, Belém, 2009.
- ERIKKSON, E.; NERBRINK, E.; BORCH, E.; ASPAN, A.; GUNNARSSON, A. Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 in the Swedish pig population. *Veterinary Record*, n. 1, v. 52, p. 712–717, 2003.
- FEDER, I.; WALLACE, F. M.; GRAY, J. T.; FRATAMICO, P.; FEDORKA-CRAY, P. J.; PEARCE, R. A. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from intact colon fecal samples of swine. *Emerging Infectious Diseases*, v. 9, n. 3, p. 380–383, 2003.
- FRANCO, R. M.; MANTILLA, S. P. S.; GOUVÊA, R.; OLIVEIRA, L. A. T. Resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* isoladas de carne e dejetos suínos. *Acta Veterinaria Brasilica*, v. 4, n. 1, p. 31-36, 2010.

HENTON, M. M.; HUNTER, P. *E. coli* infections In: COET- ZER, J. A. W.; TUSTIN, R. C. (Eds.), *Infectious disease of livestock*. 5 ed. New York: Oxford university Press, 1994. p.1085-1099.

HEUVELINK, A. E.; ZWARTKRUIS-NAHUIS, J. T. M.; VAN DEN BIGGELAAR, F. L. A. M.; VAN LEEUWEN, W. J.; DE BOER, E. Isolation and characterization of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 from slaughter pigs and poultry. *International Journal of Food Microbiology*, v. 52, n.1, p. 67-75, 1999.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Banco de Dados Agregados*. 2012. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pecua/default.asp>>. Acesso: 10 dez 2015.

JOHNSEN, G.; WASTESON, Y.; HEIR, E.; BERGET, O. I.; HERIKSTAD, H. *Escherichia coli* O157:H7 in faeces from cattle, sheep and pigs in the southwest part of Norway during 1998 and 1999. *International Journal of Food Microbiology*, v. 65, n. 1, p. 193–200, 2001.

LANGENEGGER, J.; AMORIM, A. F.; LANGENEGGER, C. H. Surto da Doença do edema do suíno em Concórdia, Santa Catarina. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 9, n. 7, p. 87-90, 1974.

MCGAVIN, M. D.; ZAACHARY, J., F. *Bases da patologia em veterinária*. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. 1344

MENIN, A.; RECK, C.; SOUZA, D.; KLEIN, C.; VAZ, E. 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, n. 6, 2008.

MENG, Q.; BAI, X.; ZHAO, A.; LAN, R.; DU, HUAMAQ; WANG, T.; SHI, C.; YUAN, X.; BAI, X.; SHAOBO, J.; JIN, D.; YU, B.; WANG, Y.; SUN, H.; LIU, K.; XU, J.; XIONG, Y. Characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from healthy pigs in China. *BMC Microbiology*. p. 14:5, 2014.

NATARO, J. P.; KAPER, B. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 11, n. 1, p. 142-201, 1998.

PATON, J. C.; PATON, A. W. Patogenesis and diagnosis of Siga toxin-producing *Escherichia coli* infections. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 11, n. 3, p. 450-479, 1998.

RIOS, M.; PRADO, V.; TRUCKSIS, M.; ARELLANO, C.; BORIE, C.; ALEXANDRE, M.; FICA, A.; LEVINE, M. M. Clonal diversity of Chilean isolates of enterohemorrhagic *Escherichia coli* from patients with hemolytic-uremic syndrome, asymptomatic subjects, animal reservoirs, and food products. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 37, n. 3, p. 778–781, 1999.

SANTOS, R. L.; ALESSI, A. C. *Patologia Veterinária*. 1. ed. São Paulo: Roca, 2010. p. 423.

SATO, J. P. H.; TAKEUTI, K. L.; DANIEL, A. G. S.; KOERICH, P. K. V.; BERNARDI, M. L.; BARCELLOS, D. E. S. N. Associação entre fatores de virulência e resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* enterotoxigênicas isoladas de leitões com diarreia no Brasil. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 43, n. 1, p. 1-7, 2015.

SCHNEIDER, R. N.; NADVORNY, A.; SCHMIDT, V. Perfil de resistência antimicrobiana de isolados de *Escherichia coli* obtidos de águas superficiais e subterrâneas, em área de produção de suínos. *Biotemas*, v. 22, n. 3, p. 11-17, 2009.

SHERLEY, M.; GORDON, D. M.; COLLIGNON, P. J. Evolution of multi-resistance plasmids in Australian clinical isolates of *Escherichia coli*. *Microbiology*, v. 150, n. 5, p. 1539-1546, 2004.

SILVA, F. F. P.; SANTOS, M. A. A.; SCHMIDT, V. Resistência a antimicrobianos de *Escherichia coli* isolada de dejetos suínos em esterqueiras. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.60, n.3, p.762-765, 2008.

SOBESTIANSKY, J.; BARCELLOS, D. E. S. N.; MORES, N.; CARVALHO, L. F. O. S.; OLIVEIRA, S. J. 1999. *Clínica e Patologia Suína*, Goiânia: Art 3, 464 p

TENG, L. J.; HSUEH, P. R.; LIAW, S. J.; HO, S. W.; TASAI, J. C. Genetic detection of diarrheagenic *Escherichia coli* isolated from children with sporadic diarrhea. *Journal of Microbiology Immunology Infection*, v. 37, n. 6, p. 327-334, 2004.

TROTZ-WILLIAMS, L. A.; MERCER, N. J.; WALTERS, J. M.; MAKI, A. M.; JOHNSON, R. P. Pork implicated in a Shiga toxin producing *Escherichia coli* O157:H7 outbreak in Ontario, Canada. *Canadian Journal of Public Health*, v. 103, n. 5, p. 322-326, 2002.

VU, D. T. V. D.; SETHABUTR, O.; VON SEIDLEIN, L.; TRAN, V. T.; DO, G. C.; BUI, T. C.; LE, H. T.; LEE, H.; HOUNG, H. S.; HALE, T. L.; CLEMENS, J. D.; MASON, C.; DANG, D. T. Detection of Shigella by a PCR assay targeting the ipaH gene suggests increased prevalence of shigellosis in Nha Trang, Vietnam. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 42, n. 5, p. 2031-2035, 2004.

YATES, C. M.; PEARCE, M. C.; WOOLHOUSE, M. E.; AMYES, S. G. High frequency transfer and horizontal spread of apramycin resistance in calf faecal *Escherichia coli*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v. 54, n. 2, p. 534-537, 2004.

ZWEIFEL, C.; SCHUMACHER, S.; BEUTIN, L.; BLANCO, J.; STEPHAN, R. Virulence Profiles of Shiga Toxin 2e-Producing *Escherichia Coli* Isolated from Healthy Pig at Slaughter. *Veterinary microbiology*, v. 117, n. 2-4, p. 328-32, 2006.

CAPÍTULO II

***Escherichia coli* patogênicas e perfil de resistência antimicrobiana em suínos criados na Amazonia oriental, Brasil.**

Artigo a ser submetido

***Escherichia coli* patogênicas e perfil de resistência antimicrobiana em suínos criados na Amazonia oriental, Brasil.**

Suellen da Gama Barbosa Monger^{1*}, Daniela Cristiane da Cruz Rocha², Débora de Castro Costa³, Sebastião Tavares Rolim Filho⁴, Washington Luiz Assunção Pereira⁵

^{1, 4, 5} Universidade Rural da Amazônia (UFRA), ISPA- Instituto de Saúde e Produção Animal, Avenida Presidente Tancredo Neves, 2501, 66.077-830, Belém, Pará, Brasil.

^{2, 3} Instituto Evandro Chagas (IEC) - Laboratório de enterobactérias, Rodovia BR-316 km 7 s/n, 67030-000, Levilândia, Pará, Brasil.

RESUMO

Na região Norte, a suinocultura apresenta pouca atenção aos cuidados higiênico-sanitários, o que favorece as infecções bacterianas entéricas responsáveis por grande impacto na suinocultura, além de algumas representarem um risco para saúde coletiva. No ecossistema amazônico, pouco se conhece a respeito da ocorrência de enterobactérias em suínos destinados ao abate. Deste modo, objetivou-se investigar a ocorrência de *Escherichia coli* patogênicas em suínos criados no Estado do Pará, determinar os fatores de risco para a aquisição dessas cepas de enterobactérias, além de verificar o perfil de resistência à antimicrobianos..Foram colhidas 200 amostras de fezes (*swab* retal) de suínos procedentes de 15 propriedades localizadas na Mesorregião Metropolitana de Belém e do Nordeste Paraense e processadas no Laboratório de Enterobactérias do Instituto Evandro Chagas, Ananindeua, PA. Para isolamento de *E. coli*, as amostras foram semeadas nos caldos EC e GN, incubadas e a seguir semeada em Ágar MacConkey. As colônias suspeitas foram identificadas em TSI para posterior caracterização bioquímica. A caracterização do patótipo foi realizada a partir da amplificação através da técnica da PCR Multiplex. A susceptibilidade aos agentes antimicrobianos dos isolados foi avaliada utilizando o sistema automatizado VITEK[®] 2 Compact (bioMérieux). Os dados foram avaliados através *Statistical Analysis System* (SAS, 2019), utilizando-se o teste qui-quadrado (χ^2) com nível de significância de 5%. Para determinar os fatores de risco, o teste *odds ratios* foi utilizado. Das 200 amostras 40,5% apresentaram *E. coli* patogênicas isoladas e identificadas pela PCR, destas, 26% de *E. coli* enteropatogênicas (EPEC), 11% *E. coli* enterohemorrágicas (EHEC), e 11% *E. coli* enteroinvasoras (EIEC). Em relação aos fatores de risco pesquisados, somente a presença de outras espécies animais e o material dos galpões do tipo madeira foram considerados estatisticamente significativos. Entre os isolados de *E. coli* patogênicas, 72,62% demonstraram sensibilidade para todos os antimicrobianos testados, 27,38% resistência para pelo menos 1 antimicrobiano testado e 26,19% das amostras apresentaram multirresistência. As maiores resistências foram para Ampicilina (22,62%), Trimetoprim Sulfametoxazol (19,04%), Cefalotina (16,66%) e Ácido nalidíxico (13,09%). Deste modo, foi possível verificar a ocorrência de *E. coli* patogênicas em suínos criados no Estado do Pará, além da resistência dessas cepas patogênicas a alguns antimicrobianos utilizados na rotina veterinária, que deve ser vista com preocupação devido a seleção de genes de resistência em bactérias presentes na microbiota de animais utilizadas como fonte de alimento.

Palavras-chave: *E. coli*, Suínos, Antibiograma.

ABSTRACT

In the northern region, swine production has little attention to hygienic-sanitary care, which favors enteric bacterial infections that have a great impact on pig production, and some represent a risk to public health. In the Amazonian ecosystem, little is known about the occurrence of enterobacteria in slaughter pigs. Thus, the objective was to investigate the occurrence of pathogenic *Escherichia coli* in pigs raised in the State of Pará, to determine the risk factors for the acquisition of these strains of enterobacteria, and to verify the antimicrobial resistance profile. rectal swab from pigs from 15 farms located in the Belém and Northeast Paraense Metropolitan Mesoregion and processed at the Evandro Chagas Institute Enterobacterial Laboratory, Ananindeua, PA. For *E. coli* isolation, samples were sown in EC and GN broths, incubated and then seeded on MacConkey Agar. Suspected colonies were identified on IST for further biochemical characterization. The characterization of the pathotype was performed by amplification using the multiplex PCR technique. Susceptibility to antimicrobial agents of isolates was evaluated using the automated VITEK® 2 Compact system (bioMérieux). Data were evaluated using the Statistical Analysis System (SAS, 2019), using the chi-square test (χ^2) with a significance level of 5%. To determine the risk factors, the odds ratios test was used. Of the 200 samples 40.5% presented pathogenic isolated *E. coli* identified by PCR, of these, 26% enteropathogenic *E. coli* (EPEC), 11% enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC), and 11% enteroinvasive *E. coli* (EIEC). Regarding the risk factors researched, only the presence of other animal species and the material of the wood type sheds were considered statistically significant. Among the pathogenic *E. coli* isolates, 72.62% showed sensitivity for all tested antimicrobials, 27.38% resistance for at least 1 tested antimicrobial and 26.19% of the samples showed multidrug resistance. The highest resistances were for Ampicillin (22.62%), Trimethoprim Sulfamethoxazole (19.04%), Cephalothin (16.66%) and Nalidixic Acid (13.09%). Thus, it was possible to verify the occurrence of pathogenic *E. coli* in pigs raised in Pará State, in addition to the resistance of these pathogenic strains to some antimicrobials used in the veterinary routine, which should be seen with concern due to the selection of resistance genes in bacteria. present in the microbiota of animals used as a food source.

Keyword: *E. coli*, Swine, Antibiogram

Introdução

As infecções bacterianas entéricas são responsáveis por grande impacto na indústria de suínos em todo o mundo, causando aproximadamente 30% das perdas econômicas na suinocultura relacionadas a mortalidade, atraso no crescimento, redução da eficiência alimentar e nos custos adicionais com tratamento e alimentação (BURCH, 2000). Além disso, alguns patógenos podem ser potencialmente zoonóticos, representando um risco para saúde coletiva (MENIN et al., 2008).

Às infecções por *Escherichia coli*, apesar de ser um problema antigo e muito conhecido em suinocultura, continuam a ser um desafio para os profissionais da área, já que os níveis crescentes de resistência observados entre as estirpes virulentas limitam cada vez mais as opções de tratamento (BACCARO et al., 2002).

Uma grande variedade de cepas de *E. coli* já foi descrita na literatura, sendo a grande maioria comensais inofensivos constituintes da microbiota intestinal normal de mamíferos saudáveis, entretanto, existem cepas patogênicas, que ao adquirir fatores de virulência específicos tornam-se responsáveis por amplo espectro de doenças humanas, que compreende desde diarreias leves à colite hemorrágica, a síndrome hemolítica urêmica e a púrpura trombocitopênica trombótica (NATARO; KAPER, 1998; PATON; PATON, 1998).

A *E. coli* é uma das bactérias mais frequentes em surtos alimentares no Brasil, segundo o Ministério da Saúde (BRASIL, 2015), atrás apenas da *Salmonella* sp. e *Staphylococcus aureus*. Apesar da sorotipagem ocupar uma posição central na história deste patógeno, o diagnóstico da infecção por *E. coli* vêm sendo cada vez mais direcionado a identificação dos fatores de virulência específicos. Essa outra forma de caracterização pode ser realizada por reação de polimerização em cadeia (PCR), e a partir de genes associados à patogenicidade da mesma, permite-se definir com precisão o potencial patogênico (TENG et al., 2004; CHENG et al., 2006). Deste modo, têm sido desenvolvido protocolos PCR multiplex usando dois ou mais pares de "primer" para aumentar a especificidade na identificação de *E. coli* patogênica (FRANCO; LANDGRAAF, 2008).

Baseado nos fatores de virulência, manifestações clínicas, epidemiologia e sorotipagem, as estirpes de *E. coli* consideradas patogênicas são agrupadas em cinco classes de origem intestinal: EPEC (*E. coli* enteropatogênica), EIEC (*E. coli* enteroinvasora), ETEC (*E. coli* enterotoxigênica), EHEC (*E. coli* entero-hemorrágica) e EAEC (*E. coli* enteroagregativa) (JOHNSON; NOLAN, 2009).

No Brasil, o Estado do Pará apresenta 788.692 cabeças de suínos (IBGE, 2017), o que representa 41% da região Norte, e no que diz respeito ao ecossistema amazônico, pouco se conhece sobre a ocorrência desse micro-organismo em suínos destinados ao abate, da sua resistência a antimicrobianos e dos fatores de risco, uma vez que a suinocultura na região Norte brasileira, diferente da região Sul e Sudeste, não tem passado por incrementos tecnológicos, e caracteriza-se por pequenas propriedades, sem acompanhamento técnico e com pouca atenção aos cuidados higiênico-sanitários, criando um ambiente favorável à disseminação de agentes infecciosos (GALVÃO et al., 2006; COSTA, 2009; IBGE, 2015).

Assim, esta pesquisa tem por propósito investigar a ocorrência de *E. coli* (EPEC, STEC, ETEC, EIEC, EAEC) através de Reação em Cadeia Polimerase (PCR) em suínos criados no Estado do Pará, além de verificar o perfil de resistência a antimicrobianos das cepas patogênicas e fatores de risco.

Material e Métodos

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de ética (CEUA) da UFRA: Protocolo 038/2013. Processo 23084.010923/2013-15.

Foram colhidas 200 amostras de fezes (*swab* retal) de suínos procedentes de 15 propriedades localizadas nas Mesorregiões: Metropolitana de Belém e Nordeste Paraense, sem predileção por raça, idade ou sexo, com e sem sinais clínicos (diarreia). No momento da coleta, foram reunidas informações sobre o animal, manejo e o ambiente de cada propriedade, caracterizando os seguintes fatores: tipo de limpeza (com ou sem desinfetante), outras espécies animais (presença ou ausência), material dos galpões (madeira ou alvenaria), alimentação exclusiva de ração (sim ou não), presença de insetos (sim ou não), qualidade do armazenamento (boa ou ruim).

As amostras foram processadas no Laboratório de Enterobactérias do Instituto Evandro Chagas (Ananindeua, Pará). O método utilizado para o isolamento dos microrganismos foi a coprocultura (VU et al., 2004).

Os espécimes fecais foram semeados diretamente em Agar MacConkey MC (Difco) além dos caldos *E. coli* - EC (Difco) e GN (gram negativo); incubados a 35 °C por 24 horas e a seguir semeado em Ágar MacConkey - MC (Difco). As colônias com lactose positiva e negativa foram identificadas em Ágar Ferro Três Açúcares - TSI (Difco) e, posteriormente, foi realizada a caracterização bioquímica manual segundo Carter (1994) além do sistema automatizado VITEK® 2 Compact (bioMérieux).

Pesquisa de genes de virulência de *E. coli*

Após serem estocados em Ágar Nutriente (Difco), foram procedido a extração de DNA dos isolados de *E. coli*, conforme as recomendações de Baloda et al. (1995), para posterior amplificação através da técnica da PCR Multiplex (cepas padrões no Quadro 1; pares de iniciadores e seus respectivos alvos e produto de amplificação no Quadro 2).

Quadro 1 - Cepas padrões utilizadas para controles positivo na PCR Multiplex, conforme o gene alvo das *Escherichia coli* diarreio gênicas

Patótipo	GENE ALVO	Cepa Padrão
EPEC	Genes <i>eae</i> (intimina) e <i>bfpA</i> (fimbria)	EPEC E2348/69
STEC	Gene <i>eae</i> (intimina) e <i>Stx</i> (<i>Stx</i> -1 e <i>Stx</i> -2)	EHEC EDL 931

ETEC	Genes <i>elt</i> e <i>est</i> (enterotoxinas)	ETEC H10407
EIEC	Gene <i>ipaH</i> (plasmídio de invasão)	EIEC EC 299/07
EAEC	Gene <i>aggR</i> (fimbrias de aderência agregativa)	EAEC O42

Quadro 2 - Iniciadores utilizados na PCR Multiplex para amplificar fragmentos de diferentes genes de virulência associados à *Escherichia coli* diarreio gênicas.

Patótipo	Iniciador	Sequências (5' - 3')	Gene Alvo	Produto de Amplificação	Referência
EPEC	<i>eae</i> - 1 <i>eae</i> - 2	F: CGAACGGCGATTACGCGAA R: CGAGACGATACGATCGAG	<i>eae</i>	917 pb	Aranda et al., 2004
EPEC	BFP - 1 BFP - 2	F: AATGGTGCTTGCGCTTGCTGC R: GCCGCTTTATCCAACCTGGTA	<i>bfpA</i>	326 pb	Aranda et al., 2004
STEC	VTcom - u VTcom - d	F: GAGCGAAATAATTTATATGTG R: TGATGATGGCAATTCAGTAT	<i>Stx</i>	518 pb	Tomas et al., 2003
ETEC	LT - f LT - r	F: GGCGACAGATTATACCGTGC R: CGGTCTCTATATTCCTGTT	<i>elt</i>	450 pb	Aranda et al., 2004
ETEC	ST - f ST - r	F: ATTTTTMTTCTGATTTTRCTT R: CACCCGGTACARGCAGGATT	<i>est</i>	190 pb	Aranda et al., 2004
EIEC	<i>ipaH</i> - 1 <i>ipaH</i> - 2	F: GTTCCTTGACCGCCTTCCGATACCGTC R: GCCGGTCAGCCACCCTCTGAGAGTAC	<i>ipaH</i>	600 pb	Aranda et al., 2004
EAEC	<i>aggRks</i> - 1 <i>aggRksa</i> - 2	F: GTATACACAAAAGAAGGAAGC R: ACAGAATCGTCAGCATCAGC	<i>aggR</i>	254 pb	Tomas et al., 2003

F: iniciador *forward* **R:** iniciador *reverse*

Todos os testes de PCR foram executados em um volume de 25µl, contendo 2 µl de DNA bacteriano, 9,5 µl de solução A (Tampão, dNTP, MgCl₂), 13 µl de solução Mix (Primers) e 0,5 µl de Taq DNA polimerase.

As reações da PCR Multiplex foram colocadas no termociclador modelo Veriti™ 96-Well *Thermal Cycler* (Applied Biosystems - EUA) e submetidas ao seguinte programa de amplificação: uma etapa inicial de desnaturação à 95 °C durante 5 minutos, seguidos por 40 ciclos de desnaturação (50 °C durante 1 minuto), hibridização (50 °C durante 1 minuto), e subsequente extensão (72 °C durante 1 minuto), além de extensão final (72 °C durante 7 minutos). A visualização do produto final foi feita a partir de eletroforese em gel de agarose a 2% corado com azul de bromofenol.

Os dados foram tabulados e avaliados através de software estatístico *Statistical Analysis System* (SAS, 2019), utilizando-se o teste estatístico qui-quadrado (χ^2) com nível de significância de 5%. Foram comparadas as frequências das variáveis positivo e negativo para as bactérias patogênicas, de acordo com o sexo e idade.

Para determinar os fatores de risco, os resultados dos questionários foram tabulados e o teste *odds ratios* utilizado para cada variável investigada, calculadas considerando como variável dependente o status do animal (positivo ou negativo) para a bactéria patogênica.

Resultados e discussão

Das 200 amostras de suabes fecais, 40,5% apresentaram *E. coli* patogênicas isoladas e identificadas pela PCR, destas, 26% de *E. coli* enteropatogênicas (EPEC), 11% *E. coli* enterohemorrágicas (EHEC), 11% *E. coli* enteroinvasoras (EIEC). Não foram verificadas *E. coli* enterotoxigênica (ETEC) e *E. coli* enteroagregativa (EAEC).

É importante ressaltar que das 15 propriedades do estudo, 66,6% (10/15) apresentaram pelo menos um grupo patogênico de *E. coli*; sendo a EPEC verificada em 60% (9/15) das propriedades, a EHEC em 40% (6/15) das propriedades e a EIEC em 26,6% (4/15) das propriedades.

A prevalência desse organismo em estudos anteriores (JOHNSEN et al., 2001; ERIKSSON et al., 2003; FEDER et al., 2003) foram menores (0,1 a 6%) do que o presente estudo. Essa condição pode ser justificada devido as condições higiênico sanitárias nas criações pesquisadas quando comparadas às instalações europeias, onde os estudos foram realizados.

Os resultados também foram superiores aos encontrados por Romanholi (2018) a partir de 120 amostras de fezes de suínos de terminação obtidos de abatedouro-frigorífico localizados na região da Zona da Mata, no Estado de Minas Gerais, que identificou *E. coli* diarreio-genicas em 12 (10%) animais, sendo a maioria EPEC (70,6%) e 29,4% EHEC (5/17), como no presente estudo.

Diferente da presente pesquisa que não verificou ETEC, no Sul do Brasil, avaliou-se a presença de diferentes fatores de virulência em 152 isolados de *E. coli* intestinais e extra-intestinais de suínos pela técnica de PCR multiplex e 25 demonstraram fatores de virulência característicos do patotipo ETEC (GIARDINI et al., 2012).

A *E. coli* enterotoxigenica também foi mais frequente em outra pesquisa desenvolvida em oito granjas da região de Ribeirão Preto a partir de 223 amostras de fezes de leitões com diarreia e 25 não diarreicos (ALMEIDA et al., 2007). Provavelmente, essas diferenças ocorrem pelos outros estudos apresentarem principalmente amostras de animais com diarreia.

Em estudo realizado numa província chinesa, Kobayashi et al. (2003) detectaram EHEC em dez de 169 (6%) e, EAEC em cinco (3%) das amostras fecais, não sendo verificado ETEC, EPEC e EIEC em nenhuma amostra. Tanih et al. (2015) estudaram a prevalência de *E. coli* em bovinos e suínos abatidos em matadouros no distrito de Vhembe da África do Sul; de um total de 176 amostras de suabes (28 bovinos e 16 suínos) da garupa, flanko, peito e pescoço dos animais, 104 (67,5%) foram positivas para *E. coli* e, destas, 13,46% eram patogênicas, sendo

1,9% enteropatogênica (EPEC), 3,8% enterotoxigênica (ETEC), e 7,6% enteroagregativa (EAEC).

Em relação ao sexo não houve diferença significativa, 42,8% dos machos e 39% das fêmeas foram positivos para *E. coli* patogênicas (Tabela 1). Segundo a literatura revisada, não há correlação da infecção com o sexo.

Tabela 1 – Frequência (%) de animais positivos e negativos para *E. coli* patogênicas de acordo com o sexo em suínos criados no Estado do Pará.

Sexo	Positivo	Negativo
Macho	33 (42,8%)	44 (57,1%)
Fêmea	48 (39,0%)	75 (60,9%)

p=0,5911; Qui-quadrado= 0,289.

Entre os animais com idade menor que 6 meses (A), 39,5% foram positivos e 42,2% dos animais com idade superior a 6 meses (B) apresentaram *E. coli* patogênicas (Tabela 2).

Tabela 2- Frequência (%) de animais positivos e negativos para *E. coli* patogênicas de acordo com a faixa etária em suínos criados no Estado do Pará.

Grupo Idade	Positivo	Negativo
B	30 (42,2%)	41 (57,7%)
A	51 (39,5%)	78 (60,4%)

P=0,7078; Qui-quadrado= 0,140.

A colibacilose em suínos é dividida em três tipos quanto a faixa etária: neonatal (primeiros dias após nascimento), de animais jovens (primeira semana até o desmame) e pós-desmame; e dependendo dos fatores de virulência presente nas cepas, da idade e do estado imunitário dos animais, poderá ocorrer diferentes formas clínicas (SANTOS; ALESSI, 2010).

As cepas de *E. coli* são identificadas como importantes causa de várias doenças em suínos em todo o mundo, incluindo septicemia neonatal, diarreia neonatal pós-desmame, doença do edema, septicemia, poliserosite, mastite, infecções do trato urinário, além de poder colonizar lesões existentes em outros lugares do corpo ou chegar num quadro crônico,

caracterizado por sequelas como má absorção, má nutrição, perda de peso e retardo no crescimento (MINAGAWA, 2007; FAIRBROTHER; GYLES, 2012).

Apesar de ter sido encontrada *E. coli* do tipo patogênica em 10 propriedades, somente oito apresentaram histórico de diarreia, inclusive com relato de morte após quadro diarreico. No momento da coleta, somente seis animais apresentaram diarreia, três aparentavam perda de peso ou retardo no crescimento e três com características clínicas de doença do edema com exposição da terceira pálpebra e quadro neurológico seguido de morte. Os outros animais (incluindo os adultos) em que se isolou *E. coli* patogênicas não demonstraram nenhum sinal clínico, bem como histórico de diarreia.

A ausência de sinais clínicos podem ser justificadas já que fatores intrínsecos e extrínsecos determinam se a doença será produzida pela infecção, entre eles, constituição genética do hospedeiro, transferência passiva de anticorpos específicos pelo colostro, contaminação ambiental e a condição nutricional, além de fatores estressantes como temperaturas extremas, superlotação e infecções intercorrentes por outros agentes (McGAVIN; ZAACHARY, 2013).

De acordo com Teng et al. (2004), a importância clínica das *E. coli* enteropatogênicas (EPEC) tem sido relatada, além de suínos, em coelhos, ruminantes, cães, cordeiros, macacos e no próprio homem. Contudo, em especial no Brasil, poucos são os dados relativos à prevalência da infecção por esse patótipo nos suínos.

Adicionalmente, a prevalência de EHEC em populações de suínos clinicamente saudáveis tem sido relatada em numerosos estudos em várias regiões do mundo. Inclusive, em alguns, surpreendentemente, a prevalência em amostras de suínos foi maior do que em bovinos, sugerindo que suínos podem ser uma fonte importante desse organismo em alguns países (BORIE, 1997; ATEBA; MBEWE, 2011).

Em relação aos fatores de risco pesquisados, somente a presença de outras espécies animais e o material das baias do tipo madeira foram considerados estatisticamente significativos (Tabela 3).

Já que a *E. coli* patogênica possui uma variedade de hospedeiros animais que podem servir de reservatório e de fonte de contaminação para o homem e o ambiente (SOUZA et al., 2016) justifica-se a presença de outras espécies animais na propriedade ser considerada fator de risco para ocorrência de *E. coli* patogênica.

Tabela 3 - Fatores de risco associados a positividade para *E. coli* patogênicas nas criações de suínos localizadas em Belém e Nordeste Paraense.

Variável de risco		OD	P
Limpeza com desinfetante	Sim	1,2296	0,5749
	Não		
Outras espécies animais	Sim	3,0564	0,0003
	Não		
Baías de Madeira	Sim	4,7107	<0,0001
	Não		
Alimentação além de ração	Sim	1,6441	0,2007
	Não		
Presença de insetos	Sim	1,2537	0,7068
	Não		
Armazenamento Ruim	Sim	1,3636	0,3620
	Não		

As propriedades que possuíam galpões de madeira também apresentaram maiores ocorrências de *E. coli* patogênica, isso provavelmente deve-se a irregularidade das superfícies de madeira e a própria natureza do material que torna a limpeza mais difícil e, dessa forma, facilita à proliferação bacteriana.

Entre os isolados de *E. coli* considerados patogênicos, 72,62% demonstraram sensibilidade para todos os antimicrobianos testados, 27,38% resistência para pelo menos um antimicrobiano testado e 26,19% das amostras apresentaram multirresistência.

As maiores resistências foram para Ampicilina (22,62%), Trimetoprim Sulfametoxazol (19,04%), Cefalotina (16,66%) e Ácido nalidíxico (13,09%). Ademais, 7,14% para Ciprofloxacina, 5,95% para Cefuroxima, 3,57% para Nitrofurantoína, 2,38% para Ceftriaxona, para Norfloxacin e para Amoxicilina e 1,9% para Ertapenem. Resultados semelhantes de sensibilidade foram descritos por outros autores estudando amostras de *E. coli* isoladas de leitões com diarreia na região Sul do Brasil (COSTA et al., 2006).

Franco et al. (2010), ao avaliarem a resistência antimicrobiana de cepas de *E. coli* isoladas de amostras de dejetos e carne suína provenientes dos Estados do Rio de Janeiro, Minas Gerais, Paraná e Santa Catarina; verificaram resistência à pelo menos sete antibióticos usados rotineiramente no tratamento das enfermidades transmitidas por alimentos de todas as cepas de *E. coli* patogênicas, sendo sensíveis apenas à Gentamicina e à Tobramicina.

Ainda no Brasil, observou-se perfil de multirresistência em amostras de *E. coli* isoladas em esterqueiras na região de Concórdia (SILVA et al., 2008). Na mesma região, verificou-se que 86,14% das linhagens de *E. coli* isoladas em água subterrânea foram resistentes à pelo menos um antimicrobiano (SCHNEIDER; NADVORNY; SCHMIDT, 2009).

Na análise de amostras referente a 15 granjas de suínos localizadas nos Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, Minas Gerais e Goiás; a susceptibilidade antimicrobiana dos isolados apresentaram níveis de resistência superiores a 60% para Amoxicilina, Ampicilina, Ciprofloxacina, Enrofloxacina, Estreptomicina e Sulfametoxazole + Trimetoprim; sendo os maiores índices (96,3%) observados para Tetraciclina (SATO et al., 2015).

Menin et al. (2008), ao pesquisar resistência antimicrobiana de amostras de *E. coli* isoladas de leitões com diarreia em Santa Catarina, verificaram menores frequências de resistência para Neomicina (55%), Ceftiofur (57,4%) e Gentamicina (62,7%) (apesar do uso intenso na suinocultura) e maiores taxas de resistência para Oxitetraciclina (94%), Tetraciclina (89,5%) e norfloxacina (83,3 %).

Em Ribeirão Preto, Almeida et al. (2007) observaram resistência para Novobiocina (100,0%), Lincomicina (96,4%), Penicilina G (90,0%), Ampicilina (73,6%), Tetraciclina (65,7%), Cloranfenicol (65,7%) e Gentamicina 42,2% a partir de 131 cepas de *E. coli* provenientes de suínos clinicamente saudáveis e com diarreia. Já em Minas Gerais, Romanholi (2018) encontrou 100% de 37 isolados (patogênicos e não patogênicos) de suínos multirresistentes aos antibióticos Ampicilina, Tiamulina, Ácido nalidíxico e Tetraciclina.

A diferença dos resultados entre as pesquisas mencionadas e o presente estudo era esperada, já que o perfil de resistência dessas bactérias aos antimicrobianos possui grande variação devido estrita relação com o histórico de utilização de antimicrobianos de cada população e região.

Nos Estados Unidos foi desenvolvido um estudo em que se coletou fezes ao longo de um ano dos três principais estados produtores de suínos (Iowa, Norte Carolina e Minnesota) e a *E. coli* foi mais frequentemente resistente à tetraciclina (89%) e às sulfonamidas (33%) (ABLEY et al., 2013). Mesmos achados foram obtidos em amostras de animais submetidos ao abate em Portugal (PENA et al., 2004).

De acordo com Sherley et al. (2004), o principal mecanismo de transferência da multi-resistência aos antimicrobianos em *E. coli* parecem ser os plasmídeos. Estes elementos podem ser transferidos via conjugação entre duas bactérias pela formação de uma pili F. Associado a isto, os plasmídeos podem facilmente receber outros genes de resistência aos antimicrobianos via integração mediada por integrons e transposons.

Desinfetantes e suplementos alimentares são utilizados em algumas das propriedades do estudo e para Yates et al. (2004) podem apresentar uma importante força de seleção para bactérias resistentes numa criação de suínos.

É importante destacar 2 amostras (blse tipo ctx-m beta-lactamase de espectro estendido) consideradas resistentes aos beta-lactâmicos. Segundo Silva e Lincopan (2012), as Beta-lactamases de espectro estendido (ESBL) tornaram-se o principal problema de saúde pública no que diz respeito às infecções nosocomiais e comunitárias por membros da família Enterobacteriaceae. Infelizmente, não existem programas de vigilância de abrangência nacional referentes à resistência bacteriana e seus mecanismos, tornando difícil estimar a proporção de produtores de ESBL no Brasil. Para os mesmos autores, as enzimas pertencentes à família CTX-M são predominantes na América do Sul, assim como na Espanha e Leste europeu.

As estirpes de *E. coli* produtoras de CTX-M-2 foram as mais prevalentes em uma pesquisa em Minas Gerais que avaliou a ocorrência de estirpes produtoras de ESBL através de 400 suabes retais de suínos provenientes de 39 granjas localizadas em Minas Gerais, São Paulo, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Mato Grosso, Paraná e Distrito Federal (SILVA, 2011).

A produção de CTX-M-2 também tem sido reportada em cepas de *Salmonella enterica* originadas de produtos de origem aviária (frango e ovos) e fontes relacionadas (granjas produtoras de frango e peru) em diferentes estados brasileiros, inclusive Paraná e Santa Catarina, os maiores produtores de carne de frango do país (SILVA et al., 2010).

De acordo com Marshall e Levy (2011), o uso não controlado de antibióticos em animais de produção é preocupante não pela perspectiva da clínica veterinária, mas de um aspecto zoonótico também, uma vez que pode contribuir para a prevalência de resistência nas cepas humanas de *E. coli*, bem como em um padrão similar.

Conclusão

Nesse estudo foram identificadas cepas de *Escherichia coli* enteropatogênica, enterohemorrágica, enteroinvasoras isoladas de suínos criados no Estado do Pará; chamando atenção a heterogeneidade e a higidez dos animais acometidos, o que pode favorecer o aparecimento de diarreias nos animais e o risco de transmissão para o homem.

Além disso, verificou-se resistência e até multiresistência dessas cepas patogênicas à antimicrobianos bastante utilizados na rotina veterinária, que pode ser devido à utilização indiscriminada de antibióticos na suinocultura, surgindo uma grande preocupação a respeito da seleção de genes de resistência em bactérias presentes na microbiota de animais utilizadas como fonte de alimento e da possibilidade da transferência destes genes para bactérias do trato intestinal humano.

REFERÊNCIAS

- ABLEY, M.; FEDORKA-CRAY, P. J.; GEBREYES, W.; MCKEAN, J., DAVIES, P.; THAKUR, S., LARSEN, S. Prevalence and antimicrobial resistance of Salmonella, *E. coli*, and Campylobacter in pigs from swine producing states in the United States. **Safepork** p. 76-78, 2003.
- ALMEIDA, F. S.; RIGOBELLO, E. C.; MARIN, J. M.; MALUTA, R. P.; ÁVILA, F. A. Diarréia suína: estudo da etiologia, virulência e resistência a antimicrobianos de agentes isolados em leitões na região de Ribeirão Preto-SP, Brasil. **Ars veterinaria**, v. 23, n. 3, p.151-157, 2007.
- ATEBA, C. N.; MBEWE, M. Detection of Escherichia coli O157:H7 virulence genes in isolates from beef, pork, water, human and animal species in the northwest province, South Africa: public health implications. **Research in Microbiology**, v. 162, n. 1, p. 240–248, 2011.
- BACCARO, M.R.; MORENO, A. M.; CORRÊA, A.; FERREIRA, A. J. P.; CALDERARO, F. F. Resistência antimicrobiana de amostras de Escherichia coli isoladas de fezes de leitões com diarreia. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 69, n. 2, p. 15-18, 2002.
- BALODA, S. B.; KROVACE, K.; ERIKSSON, L.; LINNE, T.; MANSSON, I. Detection of aerolysin gene in Aeromonas strains isolated from water fish and food by PCR. **Comparative Immunology Microbiology and Infectious Disease**, v. 18, n. 1, p. 17-26, 1995.
- BORIE, C.; MONREAL, Z.; GUERRERO, P.; SANCHEZ, M. L.; MARTINEZ, J.; ARELLANO, T. M.; PRADO, V. Prevalence and characterization of enterohaemorrhagic Escherichia coli isoated from healthy cattle and pigs slaughtered in Santiago, Chile. **Archivos De Medicina Veterinaria**, v. 29, n. 1, p. 205–212, 1997.
- BRASIL. Doenças Transmitidas por Alimentos. Disponível em: <www.saude.gov.br/svs>. Acesso em: 23 abril. 2015.
- BURCH, D. G. S. Controlling diarrhoea in growing pigs - the grey scour syndrome. **Pig Journal**. v.45, n.1, p.131-149, 2000.
- CHENG, D.; SUN, H.; XU, J.; GAO, S. PCR Detection of Virulence Factor Genes in Escherichia Coli Isolates from Weaned Piglets with Edema Disease And/or Diarrhea in China. **Veterinary Microbiology**, v. 115, n. 4, p. 320–328, 2006.
- COSTA, M.M.; SILVA, M. S.; SPRICIGO, D. A.; WITT, M. N.; MARCHIORO, S. B.; KOLLING, L.; VARGAS, A. P. C. Caracterização epidemiológica, molecular e perfil de resistência aos antimicrobianos de Escherichia coli isoladas de criatórios suínos do sul do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.26, n.1, p.5-8, 2006.
- COSTA, F. S. **Diagnóstico da cadeia produtiva do suíno: produção e comercialização no Pará**. 59 f. 2009. TCC (Especialização em Economia e Desenvolvimento Regional)- Universidade Federal do Pará, Belém, 2009.

FAIRBROTHER, J. M.; GYLES C. L.; Cobacilosis. In: ZIMMERMAN, J.J.; KARRIKER, L. A.; RAMIREZ, A.; SCHWARTZ, G. W. S. (Eds.) **Diseases of Swine**. 10. ed. Ames: John Wiley & Sons, Inc., 2012. p. 723-49.

FEDER, I.; WALLACE, F. M.; GRAY, J. T.; FRATAMICO, P.; FEDORKA-CRAY, P. J.; PEARCE, R. A. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from intact colon fecal samples of swine. **Emerging Infectious Diseases**, v. 9, n. 3, p. 380–383, 2003.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu. 182 p., 2008.

FRANCO, R. M.; MANTILLA, S. P. S.; GOUVÊA, R.; OLIVEIRA, L. A. T. Resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* isoladas de carne e dejetos suínos. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 4, n. 1, p. 31-36, 2010.

GALVÃO, E. U. P.; VILLAR, R. L. L.; MENEZES, A. J. E. A.; SANTOS, A. A. R. Análise de renda e de mão-de-obra nas unidades agrícolas familiares da comunidade de Nova Colônia, Município de Capitão-Poço, Pará. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 46, n. 1, p.29-39, 2006.

GIRARDINI, L. K.; SIQUEIRA, F. M.; KREWER, C. C.; KREWER, C. C.; DA COSTA, M. M.; VARGAS, A. C. Phylogenetic and pathotype analysis of *Escherichia coli* swine isolates from Southern Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 5, p. 374-378, 2012.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Banco de Dados Agregados**. 2015. Disponível em: <[http:// www.sidra.ibge.gov.br /bda/pecua/default.asp](http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pecua/default.asp)>. Acesso: 10 dez 2014.

JOHNSON, T. J.; NOLAN, L. K. Pathogenomics of the Virulence Plasmids of *Escherichia Coli*. **Microbiology and molecular biology reviews**, v. 73, n. 4, p. 750–74, 2009.

KOBAYASHI, H.; KHAI, L. T. L.; PHAN, T. T.; YAMASAKI, S. ; TANIGUCHI, T. Prevalence of Pathogenic *Escherichia coli* in a Swine Breeding Environment in Can Tho Province, Vietnam. **Japan Agricultural Research Quarterly**, v. 37, p. 59-63, 2003.

MARSHALL, B. M.; LEVY, S. B. Food animals and antimicrobials: Impacts on human health. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 24, n. 4, p. 718-733, 2011.

MCGAVIN, M. D.; ZAACHARY, J., F. **Bases da patologia em veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. 1344

MENIN, A.; RECK, C.; SOUZA, D.; KLEIN, C.; VAZ, E. 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, n. 6, 2008.

MINAGAWA, C. W. **Estudo microbiológico fecal de linhagens de camundongos, de estirpe de E. coli e do meio ambiente em biotérios**. 2007. 108 f. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, São Paulo

NATARO, J. P.; KAPER, B. Diarrheagenic *Escherichia coli*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 11, n. 1, p. 142-201, 1998.

PATON, J. C.; PATON, A. W. Patogenesis and diagnosis of Siga toxin-producing *Escherichia coli* infections. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 11, n. 3, p. 450-479, 1998.

PENA, A.; SERRANO, C.; RÉU, C.; BAETA, L.; CALDERÓN, V.; SILVEIRA, I.; SOUSA, J. C.; PEIXE, L. Antibiotic residues in edible tissues and antibiotic resistance of faecal *Escherichia coli* in pigs from Portugal. **Food Additive Contamination**, v. 21, n. 8, p. 749-755, 2004.

ROMANHOLI, N. L. Presença e perfil de resistência a antibióticos de *Escherichia coli* diarréogênicas obtidas de fezes de suínos Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Minas Gerais 2018

SANTOS, R. L.; ALESSI, A. C. **Patologia Veterinária**. 1. ed. São Paulo: Roca, 2010. p. 423.

SATO, J. P. H.; TAKEUTI, K. L.; DANIEL, A. G. S.; KOERICH, P. K. V.; BERNARDI, M. L.; BARCELLOS, D. E. S. N. Associação entre fatores de virulência e resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* enterotoxigênicas isoladas de leitões com diarreia no Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 43, n. 1, p. 1-7, 2015.

SATO, J. P. H.; TAKEUTI, K. L.; DANIEL, A. G. S.; KOERICH, P. K. V.; BERNARDI, M. L.; BARCELLOS, D. E. S. N. Associação entre fatores de virulência e resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* enterotoxigênicas isoladas de leitões com diarreia no Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 43, n. 1, p. 1-7, 2015.

SHERLEY, M.; GORDON, D. M.; COLLIGNON, P. J. Evolution of multi-resistance plasmids in Australian clinical isolates of *Escherichia coli*. **Microbiology**, v. 150, n. 5, p. 1539-1546, 2004.

SILVA, F. F. P.; SANTOS, M. A. A.; SCHMIDT, V. Resistência a antimicrobianos de *Escherichia coli* isolada de dejetos suínos em esterqueiras. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 3, p. 762-765, 2008.

SILVA, K. C.; LINCOPAN, N. Epidemiologia das betalactamases de espectro estendido no Brasil: impacto clínico e implicações para o agronegócio. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 48, n. 2, p. 91-99, 2012.

SILVA, K. C. **Monitoramento dos mecanismos de resistência em *Salmonella* spp. e *Escherichia coli* isoladas de animais de produção agropecuária e alimentos derivados**. 2011. 84 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

SILVA, K. C. *et al.* Dissemination of CTX-M-2-type extended-spectrum β -lactamase-producing *Salmonella* spp. in poultry farms in Brazil. In: **50th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 50, Boston, EUA. *Anais*: divulgação digital, C2 687, Boston: ICAAC, 2010.

SCHNEIDER, R. N.; NADVORNY, A.; SCHMIDT, V. Perfil de resistência antimicrobiana de isolados de *Escherichia coli* obtidos de águas superficiais e subterrâneas, em área de produção de suínos. **Biotemas**, v. 22, n. 3, p. 11-17, 2009.

SOUZA, C. O.; MELO, T.R.B; MELO, C. S. B.; MENEZES, E. M.; CARVALHO, A.C.; MONTEIRO, L.C.R. *Escherichia coli* enteropatogênica: uma categoria diarreiogênica versátil. **Revista Pan-Amazonica Saude** v.7, n.2, 2016.

TANIH, N. F.; SEKWADI, E.; ROLAND N. N.; PASCAL, O. B. Detection of Pathogenic *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* from Cattle and Pigs Slaughtered in Abattoirs in Vhembe District, South Africa. *The Scientific World Journal*, v. 2015, n.1, p.1-8, 2015.

TENG, L. J.; HSUEH, P. R.; LIAW, S. J.; HO, S. W.; TASAI, J. C. Genetic detection of diarrheagenic *Escherichia coli* isolated from children with sporadic diarrhea. **Journal of Microbiology Immunology Infection**, v. 37, n. 6, p. 327-334, 2004.

VU, D. T. V. D.; SETHABUTR, O.; VON SEIDLEIN, L.; TRAN, V. T.; DO, G. C.; BUI, T. C.; LE, H. T.; LEE, H.; HOUNG, H. S.; HALE, T. L.; CLEMENS, J. D.; MASON, C.; DANG, D. T. Detection of *Shigella* by a PCR assay targeting the *ipaH* gene suggests increased prevalence of shigellosis in Nha Trang, Vietnam. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, n. 5, p. 2031-2035, 2004.

YATES, C. M.; PEARCE, M. C.; WOOLHOUSE, M. E.; AMYES, S. G. High frequency transfer and horizontal spread of apramycin resistance in calf faecal *Escherichia coli*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 54, n. 2, p. 534-537, 2004.

CAPÍTULO III

***Salmonella* sp. em suínos criados no Estado do Pará**

Artigo a ser submetido

***Salmonella* em suínos criados no Estado do Pará**

Suellen da Gama Barbosa Monger¹; Daniela Cristiane da Cruz Rocha²; Débora de Castro Costa³; Washington Luiz Assunção Pereira⁴

^{1,4} Universidade Rural da Amazônia (UFRA), ISPA- Instituto de Saúde e Produção Animal, Avenida Presidente Tancredo Neves, 2501, 66.077-830, Belém, Pará, Brasil.

^{2,3} Instituto Evandro Chagas (IEC)- Laboratório de enterobactérias, Rodovia BR-316 km 7 s/n, 67030-000, Levilândia, Pará, Brasil

RESUMO

A suinocultura da região Norte apresenta pouca atenção aos cuidados higiênico-sanitários, o que favorece as infecções bacterianas entéricas responsáveis por grande impacto na indústria de suínos em todo o mundo, além de risco para a saúde coletiva. No ecossistema amazônico, pouco se conhece a respeito da ocorrência de enterobactérias em suínos destinados ao abate. Deste modo, objetivou-se investigar a ocorrência de *Salmonella* sp. em suínos criados no Estado do Pará, além de verificar o perfil de resistência à antimicrobianos dessas cepas patogênicas. Foram colhidas 200 amostras de fezes (*swab* retal) de suínos procedentes de 15 propriedades localizadas no Estado do Pará e processadas no Laboratório de Enterobactérias do Instituto Evandro Chagas, Ananindeua, PA. Para o isolamento de *Salmonella* sp., amostras foram inoculadas nos caldos de enriquecimento Selenito Cistina e Rappaport e, após incubação, foram semeadas nos meios de cultura seletivos- indicadores SS e em ágar Xilose-Lisina- Descarboxilato (XLD). Colônias suspeitas foram identificadas em TSI para posterior identificação bioquímica e confirmados por PCR. A susceptibilidade aos agentes antimicrobianos dos isolados foi avaliada utilizando o sistema automatizado VITEK[®] 2 Compact (bioMérieux). Os dados foram tabulados e avaliados através de software estatístico *Statistical Analysis System* (SAS, 2001), utilizando-se o teste estatístico qui-quadrado (χ^2) com nível de significância de 5%. Das 15 propriedades estudadas, em quatro verificou-se a *Salmonella*, sendo isolada em 3,0% (6/200) dos animais pesquisados. Destes, 3 *Salmonella enterica* sorovar *Arizonae*; 2 *S. enterica* sorovar *Diarizonae* e 1 *S. enterica* sorovar *Newport*. O antibiograma das linhagens de *Salmonella* sp. isoladas demonstrou 100% de resistência à Cefalotina, Cefuroxina, Cefaxetil, Amicacina e Gentamicina, além de 16% à Amoxicilina.

Palavras-chave: Salmonelose, Suínos, Antibiograma

ABSTRACT

Pig farming in the North region has little attention to hygienic and sanitary care, which favors enteric bacterial infections that have a major impact on the pig industry worldwide, as well as a risk to public health. In the Amazonian ecosystem, little is known about the occurrence of enterobacteria in slaughter pigs. Thus, the objective was to investigate the occurrence of *Salmonella* sp. in pigs raised in the State of Pará, in addition to verifying the antimicrobial resistance profile of these pathogenic strains. 200 swine fecal swine samples were collected from 15 farms located in the State of Pará and processed at the Evandro Chagas Institute Enterobacterial Laboratory, Ananindeua, PA. For isolation of *Salmonella* sp., Samples were inoculated into the Selenite Cystine and Rappaport enrichment broths and, after incubation, were sown in the selective culture media SS indicators and on Xylose-Lysine Descarboxylate (XLD) agar. Suspicious colonies were identified on TSI for later biochemical identification and

confirmed by PCR. The susceptibility to antimicrobial agents of the isolates was evaluated using the automated VITEK® 2 Compact system (bioMérieux). Data were tabulated and evaluated using statistical software Statistical Analysis System (SAS, 2001), using the chi-square statistical test (χ^2) with a significance level of 5%. Of the 15 properties studied, four were found Salmonella, being isolated in 3.0% (6/200) of the animals surveyed. Of these, 3 Salmonella enterica serovar Arizonae; 2 Salmonella enterica serovar Diarizonae and 1 Salmonella enterica serovar Newport. The antibiogram of Salmonella sp. isolates demonstrated 100% resistance to cephalothin, cefuroxin, cefaxetil, amikacin and gentamicin, and 16% resistance to amoxicillin.

Keywords: Salmonellosis, Swine, Antibiogram

Introdução

A *Salmonella* sp. pertence à família Enterobacteriaceae, bactéria gram-negativa, anaeróbia facultativa, não formadora de esporos, apresenta forma de bastonetes curtos (2-4 x 0,5 μ m), geralmente, móveis (possuindo flagelos peritríquios), não fermentadoras de lactose e sacarose, capazes de utilizar citrato como única fonte de carbono e produzir gás a partir da glicose, é oxidase negativa e catalase positiva, geralmente produzem sulfureto de hidrogênio, também descarboxila a lisina e a ornitina, e não hidrolisa a ureia (QUINN et al., 2005; FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Durante sua evolução, este gênero vem se adaptando a diferentes ambientes através da modulação na expressão de seus genes, propriedade essencial para a sua patogenicidade (LÓPEZ et al., 2012).

Amplamente difundida na natureza, e predominantemente encontrada na água, solo, em aves, ovos, produtos lácteos (BRASIL, 2015; WHO, 2015), além de frutas e vegetais frescos (PUI et al., 2011); sendo os animais de produção a principal fonte de infecção (ENG et al., 2015).

Consideradas enteroinvasivas, todas as espécies conhecidas de *Salmonella* sp. são patogênicas, causando diarreia aguda e crônica, além de morte em várias espécies animais e em seres humanos (McGAVIN; ZAACHARY, 2013).

A salmonelose é uma zoonose de importância mundial, considerada uma das principais toxinfecções alimentares em humanos (BOLLAERTS et al., 2008), sua ampla distribuição entre os animais e sua permanência no ambiente contribuem para que este microrganismo assumam papel importante na saúde pública (WEISS et al., 2002). Na União Europeia, Carrasco et al. (2012) relataram 131.468 casos humanos em um ano e 45.735 casos foram notificados nos Estados Unidos (CDC, 2013).

No Brasil, entre os anos de 2000 e 2015, foi o principal agente etiológico identificado nos surtos notificados, sendo detectada em 14,7% dos casos e entre os tipos de alimentos envolvidos, a carne suína e seus derivados corresponderam a uma parcela de 2,1% dos casos em que foi possível a identificação do alimento envolvido no surto (BRASIL, 2015).

Entretanto, para a maior parte dos animais de produção, geralmente esta enterobactéria estabelece clinicamente infecção inaparente de duração variável e, em condições de estresse, os sorovares considerados não patogênicos podem também causar a doenças (FORSHELL; WIERUP, 2006).

No ecossistema amazônico, pouco se conhece a respeito da ocorrência dessa enterobactéria em suínos destinados ao abate, uma vez que a suinocultura na região Norte brasileira, diferente da região Sul e Sudeste, não tem passado por incrementos tecnológicos, caracterizando-se por pequenas propriedades, como produção de subsistência através da comercialização regular ou esporádica em mercados consumidores locais, sem acompanhamento técnico e com pouca atenção aos cuidados higiênico-sanitários, criando um ambiente favorável à disseminação de agentes infecciosos (GALVÃO et al., 2006; COSTA, 2009; IBGE, 2015).

Deste modo, objetivou-se investigar a ocorrência de *Salmonella* sp. em suínos criados no Estado do Pará, além de verificar o perfil de resistência à antimicrobianos dessas cepas patogênicas.

Material e Métodos

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de ética (CEUA) da Universidade Federal Rural da Amazônia - UFRA, Protocolo 038/2013, e processo 23084.010923/2013-15.

Foram analisadas amostras fecais (*swab* retal) de 200 suínos procedentes de 15 propriedades localizadas nas Mesorregiões: Metropolitana de Belém e Nordeste Paraense, sem predileção por raça, idade ou sexo, apresentando ou não diarreia.

As amostras foram processadas no Laboratório de Enterobactérias do Instituto Evandro Chagas (Ananindeua, Pará). O método utilizado para o isolamento dos microrganismos foi a coprocultura (VU et al., 2004).

Os espécimes clínicos foram inoculados diretamente no ágar *Salmonella Shigella* (SS Difco), nos caldos de enriquecimento Selenito Cistina e Rappaport. Decorrido o período de incubação a 35-37 °C /24 h para o primeiro e 42 °C/24h para o segundo, as amostras foram

semeadas nos meios de cultura seletivos- indicadores SS e em ágar Xilose-Lisina-Descarboxilato (XLD), visando isolamento de *Salmonella* sp.

Após identificação presuntiva em TSI, cada amostra bacteriana sugestiva do gênero patogênico foi repicada para ágar nutriente afim de realizar a identificação bioquímica. Quando a série bioquímica correspondeu ao gênero *Salmonella* spp., amostra do meio TSI foi diluída em solução salina 0,45% e processada em método automatizado VITEK II (Biomérieux) para confirmação.

As colônias positivas para *salmonella* spp. foram testadas com soros polivalentes anti-*Salmonella* antígeno flagelar (*Salmonella* H - *antisera* a-z, Difco) e antígeno somático (*Salmonella* O - *antisera* poly A-I & VI, Difco) para classificação em sorogrupos segundo recomendações de Ewing (1986).

Os isolados suspeitos de *Salmonella* sp. foram testados por PCR através do gene *invA* para confirmação.

O DNA das amostras bacterianas foi extraído pela técnica de fervura e congelamento. Na PCR foram utilizados os iniciadores F CGAGCAGCCGCTTAGTATTGAGR e R CCATCAAATTAGCGGAGGCTTC com 881 pb para a região do gene *invA* (KUMAR et al., 2006).

Cada reação de amplificação teve um volume final de 25 µL, contendo 2 µL de DNA, 16 µL de H₂O, 0,75 µL MgCl₂, 2,5 µL de solução tampão, 1,25 µL de cada dNTP, 1,0 µL de cada *primer* e 0,5 unidade de Taq DNA polimerase Platinum (Invitrogen). As amplificações foram realizadas em termociclador automático de gradiente modelo Vereti™ 96-Well Thermal Cycler (Applied Biosystems – US), com a utilização do programa: 4 min a 95° C, 35 ciclos com de 1 min a 95° C, 1 min a 60° C e 1 min a 72° C, terminando com uma etapa de alongamento final de 7 min a 72° C.

Após a amplificação, para visualização do produto final da PCR, todas as amostras foram aplicadas em gel de agarose (2%) e corado com *azul* de bromofenol. Os tamanhos dos fragmentos amplificados foram mensurados com a utilização de marcador de peso molecular 1 Kb.

A susceptibilidade aos agentes antimicrobianos dos isolados confirmados foi avaliada utilizando o sistema automatizado VITEK® 2 Compact (bioMérieux) com cartão de 21 antimicrobianos (BLSE, Ampicilina, Amoxicilina, Piperacilina/Tazobactam, Cefalotina, Cefuroxima, Cefuroxima axetil, Ceftriaxona, Cefepima, Ertapenem, Meropenem, Amicacina, Gentamicina, ácido Nalidíxico, Ciprofloxacina, Norfloxacina, Nitrofurantoína, Tetraciclina,

Trimetropim/Sulfametoxazol), obedecendo as recomendações do Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI (2009).

Os dados foram tabulados e avaliados através de software estatístico *Statistical Analysis System* (SAS, 2001), utilizando-se o teste estatístico qui-quadrado (χ^2) com nível de significância de 5%. Foram comparadas frequências das variáveis positivo e negativo para as bactérias patogênicas, de acordo com o sexo e idade.

Resultados e Discussão

Das 15 propriedades estudadas, em quatro verificou-se a *Salmonella* sp., sendo isolada em 3,0% (6/200) dos animais pesquisados. Destes, 3 *Salmonella enterica* subespécie *arizonae*; 2 *Salmonella enterica* subespécie *diarizonae* e 1 *Salmonella enterica* subespécie *enterica*.

No Brasil, há vários relatos de ocorrência deste patógeno associado à espécie suína demonstrando prevalências variando de 16,6% (SILVA et al., 2009) a 83,33% (CASTAGNA et al., 2004). Segundo Silva et al. (2018), essa variação ocorre devido aos fatores regionais, manejo, animais e ao tipo de exploração utilizada, além dos métodos de detecção utilizados e os tipos de amostras analisadas.

S. enterica subsp. *diarizonae*, isolada na presente pesquisa, é conhecida por causar infecções em animais ectotérmicos (SCHRÖTER, 2004), no entanto o potencial patogênico deste microrganismo para o homem já é conhecido (HOAG; SESSLER 2005; STARAKIS et al. 2007).

Apesar de alguns sorovares da *S. enterica* subsp. *diarizonae* serem considerados adaptados aos ovinos (REGENSCHEIT et al., 2017), é importante ressaltar que não havia criação de ovinos na propriedades em que a *S. enterica* subsp. *diarizonae* foi isolada. Para Schnydrig et al. (2018), essa subespécie pode ser encontrada nas fezes de portadores saudáveis e de ovelhas com salmonelose, embora possa causar aborto, natimorto, diarreia, rinite proliferativa crônica, orquite, epididimite. Em humanos também foram relatadas, embora seu potencial zoonótico seja geralmente considerado baixo (SÖRÉN et al., 2015).

A *S. enterica* subsp. *arizonae* também já foi isolada em 13 de 123 suínos abatidos na Grécia central (EVANGELOPOULOU et al., 2014). Em humanos, Schneider et al. (2009) relatam *S. enterica* subsp. *arizonae* como causadoras de infecções osteoarticulares principalmente em crianças jovens e adultos imunocomprometidos. Mahajan et al. (2003) relataram um caso fatal de gastroenterite causada por *S. enterica* subsp. *arizonae* em uma

criança de 3 meses de idade com microcefalia. De acordo com os mesmos autores, embora os casos humanos devido a este organismo sejam extremamente raros, ele pode infectar crianças pequenas e indivíduos imunocomprometidos sendo a gastroenterite a apresentação mais comum; além de peritonite, pleurite, osteomielite, meningite e bacteremia. Para Nuhu et al. (2017) a *Salmonella arizonae* deve ser considerada uma das principais causas de infecção bacteriana de trato urinário.

Para McGavin e Zaachary (2013) o sorovar mais frequente envolvido com a espécie suína é a *S. Choleraesuis*. Vários sorotipos já foram verificados na espécie suína no Brasil: No Rio Grande do Sul foram colhidas amostras de fezes de lote de suínos em 10 granjas terminadoras, sendo encontrados 8 sorotipos de *Salmonella* (Agona, Bredeney, Lexington, London, Mbandaka, Panama, Schwartzengrund e *Salmonella* sp.), sendo Agona e Bredeney os mais encontrados. Na colheita individual realizada, todas as granjas amostradas foram positivas (WEISS et al., 2002). Ainda no Rio Grande do Sul, Bessa, Costa e Cardoso (2004) verificaram, a prevalência de 55,66% de animais positivos, ao testarem linfonodos mesentéricos, fezes e conteúdo intestinal, sendo os principais sorovares Typhimurium (24,3%) e Agona (19,9%).

Em Santa Catarina, Kich et al. (2011) observaram prevalência de 90% de animais positivos para amostras de swabs do assoalho da laringe e 67% para linfonodos mesentéricos, sendo os sorovares Typhimurium (50,7%) e Panama (28,5%) os mais encontrados. E no Estado do Mato Grosso, Silva et al. (2009), ao pesquisarem em linfonodos mesentéricos e tonsilas, detectaram 16,6% de animais positivos, sendo os sorovares Derby (16%) e Typhimurium (14%) os mais frequentes

Na China, Bai et al. (2015) verificaram *S. enterica* sorovar Enteritidis, *S. enterica* sorovar Hadar e *S. enterica* sorovar Indiana como predominantes em amostras de frango enquanto *S. enterica* sorovar Typhimurium, *S. enterica* sorovar Derby e *S. enterica* sorovar Enteritidis em amostras de suínos.

Em geral, a infecção por *Salmonella* sp. determina manifestações subclínicas em suínos, sendo poucos sorotipos, como o Choleraesuis e o Typhimurium, os que constituem causa significativa de doença (SOBESTIANSKY et al., 1999).

De acordo com Fedorka-Cray (1996), em suínos, poucos sorotipos são causa de doença clínica, o que pode justificar o fato de apenas 1 animal, dos 6 animais em que a *Salmonella* sp. foi isolada, ter apresentado diarreia. Entretanto, é importante ressaltar que o mesmo autor relata que os sorotipos que não estão associados a esses quadros são os principais envolvidos na

contaminação da carne suína e seus produtos; o que gera preocupação em relação à saúde pública.

Ademais, sabe-se que diferentes e múltiplos fatores podem influenciar a dinâmica da colonização de *Salmonella* sp. em suínos, incluindo características do patógeno (mecanismos de virulência, dosagem de exposição), resposta imune do animal e interação complexa entre o patógeno e a microbiota intestinal (BEARSON et al., 2013).

Em relação a faixa etária dos animais acometidos, três apresentavam idade superior a um ano e três idade menor que seis meses, diferindo em parte da literatura, que reporta a infecção em suínos principalmente na idade de quatro a oito semanas e a relaciona principalmente ao sorotipo Typhimurium podendo ser sintomática ou assintomática (PARK; RYU, 2000; SILVA et al., 2009).

De acordo com McGavin e Zaachary (2013) na septicemia hiperaguda causada por *Salmonella* sp., os animais jovens são os mais afetados, sendo geralmente fatal para os de 1 a 6 meses de idade ocorrendo por coagulação intravascular disseminada, entretanto, dentre os animais positivos, nenhum veio a óbito com diarreia. Segundo esses autores, a forma de ocorrência da salmonelose (septicêmica, entérica aguda, ou entérica crônica) depende da dose de desafio da bactéria, exposição prévia à bactéria e fatores de estresse (superpopulação, transporte, temperaturas extremas, mudanças na dieta, gestação, cirurgia), o que também pode justificar a ausência do quadro clínico.

Quando sintomática, os animais apresentam decréscimos no desempenho de crescimento por gastroenterite autolimitante (FARZAN; FRIENDSHIP, 2010; ROSTAGNO; CALLAWAY, 2012), o que foi verificado em um dos animais.

É importante ressaltar que as quatro propriedades em que o enteropatógeno foi isolado apresentavam outras espécies animais (aves, caninos, felinos e bovinos), fator que pode ter sido fundamental para a ocorrência da *Salmonella* sp. nessas propriedades, uma vez que entre os fatores de risco, o contato com outras espécies animais podem ser representativos, já que todos os vertebrados são suscetíveis à infecção (FUNK; DAVIES; GEBREYES, 2001). Embora essa relação não tenha sido encontrada em outra pesquisa (KABAGAMBE et al., 2000).

Outros fatores de risco descritos na literatura são: a densidade do rebanho, em que a maior prevalência de salmonelose é associada a maiores densidades (FUNK; DAVIES; GEBREYES, 2001); além da presença de espécies de invertebrados, que segundo Liebana et al. (2003), podem servir como reservatórios ou vetores potenciais para a bactéria. Uma das propriedades em que se isolou o patógeno, havia grande quantidade de moscas.

Vários estudos vêm apontando o isolamento de cepas de *Salmonella* sp. multirresistentes, incluindo as principais drogas de escolha nas práticas terapêuticas para protocolos veterinários e humanos (EFSA, 2014). O antibiograma das linhagens de *Salmonella* sp. isoladas demonstrou 100% de resistência à Cefalotina, Cefuroxina, Cefaxetil, Amicacina e Gentamicina, além de 16% à Amoxicilina. Weiss et al. (2002) verificaram 97,8% de resistência à sulfonamida, 82,6% à estreptomicina, 36,9% à tetraciclina e 15,2% à sulfazotrim no Rio Grande do Sul.

Ao testarem resistência dos isolados de *S. enterica* subsp. *arizonae* para 23 antimicrobianos, Evangelopoulou et al. (2014) concluíram que a carne de porco pode desempenhar um papel na transmissão de *S. enterica* subsp. *arizonae* resistente aos antibióticos para consumidores humanos. Já que encontraram resistência para 70,8% dos antibióticos, sendo os mais valores encontrados para sulfametoxazol-trimetoprim (71,4%), tetraciclina (71,4%), ampicilina (64,3%) e amoxicilina (57,1%).

No Brasil, diferentes sorotipos de *Salmonella* sp. isolados de suínos no Rio Grande do Sul apresentaram resistência a sulfonamidas (83,9%), tetraciclina (37,4%), cotrimoxazol (25,2%), ampicilina (20,2%), cloranfenicol (16,1%), estreptomicina (14,1%) e ácido nalidíxico (10,1%), sendo 24,2% resistentes a várias drogas (CASTAGNA et al., 2001). Em suínos abatidos em São Paulo e Santa Catarina, Guerra Filho et al. (2016) verificaram *Salmonella* sp. em 10% das amostras de fezes e linfonodos, e todas apresentaram resistência a pelo menos um antimicrobiano testado, sendo 90% resistente a pelo menos quatro antimicrobianos.

Schmidt e Cardoso (2003), ao analisarem amostras de *Salmonella* sp. isoladas de sistema de tratamento de dejetos suínos localizado no sul do Brasil, verificaram resistência contra sulfonamida (100%), tetraciclina (99,4%), estreptomicina (90,1%), sulfa/ trimetoprima (84,5%), ácido nalidíxico (77,6%), ampicilina (76,4%), cloranfenicol (29,2%), cefaclor (25,5%), tobramicina (13,7%), gentamicina (6,2%), amoxicilina/ácido clavulânico (5%), neomicina (5%) e amicacina (3,7%).

Em Santa Catarina, Menin et al. (2008) verificaram baixa frequência de resistência à gentamicina (3,5%) amoxicilina (4,8%) e neomicina (6,2%) e maior resistência à oxitetraciclina (77%), tetraciclina (42,1%) e norfloxacin (39,3%). Nos Estados Unidos foi realizada pesquisa em que se coletou fezes ao longo de um ano dos três principais estados produtores de suínos (Iowa, Carolina do Norte e Minnesota) e o gênero foi mais frequentemente resistente à tetraciclina (76%), ao sulfisoxazol (59%) e à estreptomicina (55%) (ABLEY et al., 2013).

Nas Filipinas Calayag et al. (2017), analisaram linfonodos e jejuno de 240 suínos, e destes, resultaram 183 isolados de *S. enterica* que revelaram alta resistência à ampicilina (67,8%) e trimetoprim / sulfametoxazol (80,3%). Na China, destacou-se resistência à ciprofloxacina (10,0%) e Cefotaxime (8,6%), além de multiresistência de 57,1% dos isolados suínos (BAI et al., 2015). Já na Tailândia, estudo de Boonkhot, Tadee e Patchanee (2015) demonstraram que quase 90% de *Salmonella* sp. eram resistentes a pelo menos 1 antimicrobiano e 72% eram resistentes a múltiplos fármacos.

É perceptível a crescente preocupação em relação ao surgimento mundial de fenótipos multiresistentes entre sorotipos de *Salmonella* sp., como *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis* e *S. Newport*, principalmente, resistência a quinolonas, fluoroquinolonas ou cefalosporinas de espectro estendido, como ceftiofur e ceftriaxona. Recentemente, a ocorrência de isolados resistentes a estes antibióticos aumentaram. Portanto, o monitoramento contínuo de sua prevalência e resistência no fornecimento de alimentos é necessário devido às implicações de saúde pública de uma disseminação potencial de microorganismos resistentes. Além disso, uma abordagem de manejo de animais, como controle rigoroso de agentes antimicrobianos na indústria animal, diagnóstico clínico e microbiológico precoce, tratamento adequado e implementação de padrões sanitários rigorosos também são necessários para reduzir significativamente a carga global de salmonelose considerando sua importância na saúde humana (HUR; JAWALE; LEE, 2012).

Conclusão

Foi possível verificar a ocorrência de *Salmonella* sp. em suínos criados no Estado do Pará, ratificando a importância da espécie como reservatório de *Salmonella* sp., funcionando como fonte de infecção para o humano de forma direta, devido à eliminação do agente nas fezes, ou indireta, por contaminação cruzada entre manipuladores ou equipamentos contaminados e carcaças ou produtos derivados.

Deste modo, a prevalência de *Salmonella* sp. em suínos destinados ao abate é preocupante do ponto de vista sanitário, uma vez que a chegada desses portadores nos abatedouros, podem resultar em contaminação cruzada.

Além disso, constatou-se resistência dessas cepas patogênicas à alguns antimicrobianos bastante utilizados na rotina veterinária, surgindo uma grande preocupação a respeito da seleção de genes de resistência em bactérias presentes na microbiota de animais utilizadas como fonte

de alimento e da possibilidade da transferência destes genes para bactérias do trato intestinal humano.

REFERÊNCIAS

ABLEY, M.; FEDORKA-CRAY, P. J.; GEBREYES, W.; MCKEAN, J., DAVIES, P.; THAKUR, S., LARSEN, S. Prevalence and antimicrobial resistance of Salmonella, E. coli, and Campylobacter in pigs from swine producing states in the United States. **Safepork** p. 76-78, 2003.

BAI, L.; LAN, R.; ZHANG, X.; CUI, S.; XU, J.; GUO, Y.; LI, F.; ZHANG, D. Prevalence of Salmonella Isolates from Chicken and Pig Slaughterhouses and Emergence of Ciprofloxacin and Cefotaxime Co-Resistant S. enterica Serovar Indiana in Henan, China. **Plos One**, v. 10, n. 12, p. 1-14, 2015.

BEARSON, S. M.; ALLEN, H. K.; BEARSON, B. L.; LOOFT, T.; BRUNELLE, B. W.; KICH, J. D. Profiling the gastrointestinal microbiota in response to Salmonella: low versus high Salmonella shedding in the natural porcine host. **Infection Genetics and Evolution**, v. 16, 330–340, 2013.

BESSA, M. C.; COSTA, M.; CARDOSO, M. Prevalência de Salmonella sp. em suínos abatidos em frigoríficos do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 24, n.1, p. 80-84, 2004.

BOLLAERTS, K.; AERTS, M.; FAES, C.; GRIJSPEERDT, K.; DEWULF, J.; MINTIENS, K. Human salmonellosis: estimation of dose-illness from outbreak data. **Risk Analysis**, v. 28, n. 1, p. 427-440, 2008.

BOONKHOT, P.; TADEE P.; PATCHANEE, P. Serodiversity and Antimicrobial Resistance Profiles of Detected Salmonella on Swine Production Chain in Chiang Mai and Lamphun, Thailand. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 43, n 1263, p. 1-8.

BRASIL. Doenças Transmitidas por Alimentos. Disponível em: <www.saude.gov.br/svs>. Acesso em: 23 abril. 2015.

CALAYAG, A. M. B.; PACLIBARE, P. A. P.; SANTOS, P. D. M.; BAUTISTA, C. A. C.; RIVERA, W. L. Molecular characterization and antimicrobial resistance of Salmonella enterica from swine slaughtered in two different types of Philippine abattoir. **Food Microbiology**, v. 65, n.1, p. 51-56, 2017.

CARRASCO, E.; MORALES-RUEDA, A.; GARCIA-GIMENO, R. M. Cross-contamination and recontamination by Salmonella in foods: a review. **Food Research International**, v. 45, n. 1, p. 545-556, 2012.

CASTAGNA, S. M. F.; BESSA, M. C.; CARVALHO, D. A.; CARDOSO, M.; COSTA, M. Resistência a antimicrobianos de amostras de Salmonella sp. isoladas de suínos abatidos no estado do Rio Grande do Sul. **Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS**, v. 29, n. 1, p. 44-49, 2001.

CDC 2013. **Centers for Disease Control**, National Salmonella Surveillance Annual Report - Appendices, 2013. US Department of Health and Human Services, CDC, Atlanta, GA, p.1-89.

COSTA, F. S. **Diagnóstico da cadeia produtiva do suíno: produção e comercialização no Pará**. 59 f. 2009. TCC (Especialização em Economia e Desenvolvimento Regional)-Universidade Federal do Pará, Belém, 2009.

EFSA 2014. The European Union Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2012. European Food Safety Authority, **EFSA J.** 12:23-51.

ENG, S.; PUSPARAJAH, P.; MUTALIB, N. A.; SER, H.; CHAN, K.; LEE, L. Salmonella: A review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance. **Frontiers in Life Science**, v. 8, n. 3, p. 284-293, 2015.

EVANGELOPOULOU, G.; KRITAS, S.; GOVARIS, A.; BURRIEL, A. R. Pork Meat as a Potential Source of *Salmonella enterica* subsp. *arizonae* Infection in Humans. **Journal Of Clinical Microbiology**. V. 52, n. 3, p. 741–744, 2014.

FARZAN, A.; FRIENDSHIP, R. M. A clinical field trial to evaluate the efficacy of vaccination in controlling Salmonella infection and the association of Salmonella-shedding and weight gain in pigs. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 74, n. 4, p. 258–63, 2010.

FEDORKA-CRAY, P.J. 1996. **The connection between Salmonella, swine, and food safety**, p. 25-45. In: George A. Young Conference, USA.

FORSHELL, L. P.; WIERUP, M. Salmonella contamination: a significant challenge to the global marketing of animal food products. **Revue Scientifique Et Technique**, v. 25, n. 1, p. 541-554, 2006.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu. 182 p., 2008.

FUNK, J. A.; DAVIES, P. R.; GEBREYES, W. A. Risk factors associated with Salmonella enterica prevalence in three-site production systems in North Carolina, USA. **Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift**, v. 114, n. 9-10, p. 335–338, 2001.

GALVÃO, E. U. P.; VILLAR, R. L. L.; MENEZES, A. J. E. A.; SANTOS, A. A. R. Análise de renda e de mão-de-obra nas unidades agrícolas familiares da comunidade de Nova Colônia, Município de Capitão-Poço, Pará. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 46, n. 1, p.29-39, 2006.

GUERRA FILHO, J. B. P.; YAMATOGLI, R. S.; POSSEBON, F. S.; FERNANDES, S. A.; TIBA-CASAS, M. R.; LARA, B. H. B.; RIBEIRO, M. G. Frequency, serotyping and antimicrobial resistance pattern of Salmonella from feces and lymph nodes of pigs. **Pesquisa Veterinária Brasileira** v. 36, n. 12, p. 1165-1170, 2016.

HOAG, J. B.; SESSLER, C. N. A comprehensive review of disseminated Salmonella arizona infection with an illustrative case presentation. **South Medical Journal**, v. 98, p. 1123–1129, 2005.

HUR, J.; JAWALE, C.; LEE, J. H. Antimicrobial resistance of Salmonella isolated from food animals: A review. **Food Research International**. v. 45, n. 2, p. 819-830, 2012.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Banco de Dados Agregados**. 2015. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pecua/default.asp>>. Acesso: 10 dez 2015.

KABAGAMBE, E. K.; WELLS, S. J.; GARBER, L. P.; SALMAN, M. D.; WAGNER, B.; FEDORKA-CRAY, P. J. Risk factors for fecal shedding of Salmonella in 91 US dairy herds in 1996. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 43, n. 3, p. 177–194, 2000

KICH, J. D.; COLDEBELLA, A.; MORÉS, N.; NOGUEIRA, M. G.; CARDOSO, M.; FRATAMICO, P. M.; CALL, J. E.; FEDORKA-CRAY, P.; LUCHANSKY, J. B. Prevalence, distribution, and molecular characterization of Salmonella recovered from swine finishing herds and a slaughter facility in Santa Catarina, Brazil. **International Journal of Food Microbiology**, v.151, p.307-313, 2011.

LIEBANA, E.; GARCIA-MIGURA, L.; CLOUTING, C.; CLIFTON-HADLEY, F. A.; BRESLIN, M.; DAVIES, R. H. Molecular fingerprinting evidence of the contribution of wildlife vectors in the maintenance of Salmonella Enteritidis in layer farms. **Journal Applied Microbiology**, v. 94, n 1, p.1024–1029, 2003.

LÓPEZ, F. E.; PESCARETTI, M. L.M.; MORERO, R.; DELGADO, M. A. Salmonella Typhimurium general virulence factors: A battle of David against Goliath?. **Food Research International**, v. 45, n. 2, p. 842–851, 2012.

MAHAJAN, R. K.; KHAN, S.A.; CHANDEL, D. S.; KUMAR, N.; HANS, C.; CHAUDHRY, R. Fatal Case of *Salmonella enterica* subsp. *arizonae* Gastroenteritis in an Infant with Microcephaly. **Journal Clinical Microbiology**, v. 41, n. 12, p. 5830-5832, 2003.

MCGAVIN, M. D.; ZAACHARY, J., F. **Bases da patologia em veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. 1344 p.

MENIN, A.; RECK, C.; SOUZA, D.; KLEIN, C.; VAZ, E. 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, n. 6, 2008.

NUHU, T.; OLAYINKA, B. O.; BOLAJI, R. O.; ADABARA, N. U. Salmonella arizonae: An uncommon uropathogen? **Gulf Medical Journal**, v. 6, n. 1, 2017.

PARK, J. P., RYU, S. Prevalence of Antivirotic Resistant Strains among Bacteria Isolated from Bovine Mastitis, Swine Diarrhea, and Swine Pneumonia. **Korean Journal of Applied Microbiology and Biotecnology**, v. 28, n. 3, p. 189-194, 2000.

- PUI, C. F.; WONG, W. C.; CHAI, L. C.; NILLIAN, E.; GHAZALI, F. M.; CHEAH, Y. K.; NAKAGUCHI, Y.; NISHIBUCHI, M.; RADU, S. Simultaneous detection of *Salmonella* spp., *Salmonella* Typhi and *Salmonella* Typhimurium in sliced fruits using multiplex PCR. **Food Control**, v. 22, n. 2, p. 337–342, 2011.
- QUINN P. J.; MARKEY, B.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J.; LEONARD, F. C. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre: Artmed, p.115-130, 2005.
- REGENSCHEIT, N. S.; OVERESCH, G.; GIEZENDANNER, R.; ROOS, S.; GURTNER, CORINNE. *Salmonella enterica* subsp. *diarizonae* serotype 61:k:1,5,(7) associated with chronic proliferative rhinitis and high nasal colonization rates in a flock of Texel sheep in Switzerland. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 145, n. 15, p. 78-82, 2017.
- ROSTAGNO, M. H.; CALLAWAY, T. R. Pre-harvest risk factors for *Salmonella enterica* in pork production. **Food Research International**, v. 45, n. 2, p. 634–640, 2012.
- SCHMIDT, V.; CARDOSO, M. R. I. Sobrevivência e perfil de resistência a antimicrobianos de *Salmonella* sp. isoladas em um sistema de tratamento de dejetos de suínos. **Ciência Rural**, v.33, n. 5, p. 881-888, 2003.
- SCHNYDRIG, P.; OVERESCH, G.; REGLI, W.; BEE, A.; RODRIGUEZ-CAMPOS, S. *Salmonella enterica* subspecies *diarizonae* serovar 61:(k):1,5,(7) as cause of caprine abortion. **Small Ruminant Research**, v. 166, n.1, p. 78-82, 2018.
- SCHNEIDER, L.; EHLINGER, M.; STANCHINA, C.; GIACOMELLI, M. C.; GICQUEL, P.; KARGER, C.; CLAVERT, J. M. *Salmonella enterica* subsp. *arizonae* bone and joints sepsis. A case report and literature review. **Orthopaedics & Traumatology: Surgery & Research – Journal**. v. 95, n. 3, p. 237-242, 2009.
- SCHRÖTER, M.; ROGGENTIN, P.; HOFMANN, J.; SPEICHER, A.; LAUFS, R.; MACK, D. Pet snakes as a reservoir for *Salmonella enterica* subsp. *Diarizonae* (Serogroup IIIb): a prospective study. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, p. 613-615, 2004.
- SILVA, M. C.; FARIA, G. S.; PAULA, D. A. J.; MARTINS, R. P.; CARAMORI JUNIOR, J. G.; KICH, J. D.; COLODEL, E. M.; NAKAZATO, L.; DUTRA, V. Prevalência de *Salmonella* spp. em suínos abatidos no Estado de Mato Grosso. **Ciência Rural**, v. 39, n. 1, p. 266-268, 2009.
- SILVA, R. O. S.; GONÇALVES, G. G.; LAZZARI, A. M.; MULINARI, F. Prevalência de *Salmonella* spp. em suínos abatidos em um frigorífico do Distrito Federal determinada pela técnica de PCR. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, n.1, p. 1-6, 2018.
- SOBESTIANSKY, J.; BARCELLOS, D. E. S. N.; MORES, N.; CARVALHO, L. F. O. S.; OLIVEIRA, S. J. 1999. **Clínica e Patologia Suína**, Goiânia: Art 3, 464 p.
- SÓREN, K.; LINDBLAD, M.; JERNBERG, C.; ERIKSSON, E.; MELIN, L.; WAHLSTRÖM, M.; LUNDH, M. Changes in the risk management of *Salmonella enterica* subspecies *diarizonae* serovar 61:(k):1, 5, (7) in Swedish sheep herds and sheep

meat due to the results of a prevalence study 2012. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 57, n.1, p. 1-6, 2015.

STARAKIS, I.; SIAGRIS, D.; KARATZA, C.; SOLOMOU, H.; BASSARIS, H. Endocarditis due to *Salmonella enterica* subsp. *arizonae* in a patient with sickle cell disease: a case report and review of the literature. **Cardiovascular Hematological Disorder Drug Targets**, v. 7, p. 99–204, 2007.

VU, D. T. V. D.; SETHABUTR, O.; VON SEIDLEIN, L.; TRAN, V. T.; DO, G. C.; BUI, T. C.; LE, H. T.; LEE, H.; HOUNG, H. S.; HALE, T. L.; CLEMENS, J. D.; MASON, C.; DANG, D. T. Detection of *Shigella* by a PCR assay targeting the *ipaH* gene suggests increased prevalence of shigellosis in Nha Trang, Vietnam. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, n. 5, p. 2031-2035, 2004

WEISS, L. H. N.; NONIG, R. B.; CARDOSO, M.; COSTA, M. Ocorrência de *Salmonella* sp em suínos de terminação no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira** v.22, n.3, p. 2002.

WHO. *Salmonella*. Disponível em: <<http://www.who.int/topics/salmonella/en/>>. Acesso em: 7 maio. 2015.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As informações sobre a ocorrência de enterobactérias patogênicas em suínos no âmbito Amazônico são escassas, deste forma, surgiu a proposta do presente estudo determinar o perfil epidemiológico atual, detectando a presença dos diferentes patotipos de *Escherichia coli* (EPEC, STEC, ETEC, EIEC, EAEC) e *Salmonella* sp. através de Reação em Cadeia Polimerase (PCR) em amostras de fezes de suínos criados no Estado do Pará, além de avaliar o perfil de resistência antimicrobiana das bactérias patogênicas isoladas.

Os resultados obtidos neste estudo comprovaram a ocorrência dos enteropatógenos *E.coli* (EPEC, EHEC e EIEC) e *Salmonella* sp. em suínos procedentes da região Amazônica do Estado do Pará, Brasil. Na pesquisa realizada em 200 amostras fecais, foi possível observar a presença de *E. coli* patogênicas isoladas e identificadas pela PCR em 40,5% (81/200), além de *Salmonella* sp. em 3% (6/200). Também foi observada infecção concomitante para ambos os agentes.

Deste modo, os suínos podem ser considerados importantes reservatórios de enteropatógenos, funcionando como fonte de infecção para o humano de forma direta, devido à eliminação do agente nas fezes, ou indireta, por contaminação cruzada entre manipuladores ou equipamentos contaminados e carcaças ou produtos derivados.

Também foi possível verificar resistência e até multiresistência dessas cepas patogênicas à antimicrobianos bastante utilizados na rotina veterinária, que pode ser devido à utilização indiscriminada de antibióticos na suinocultura. Assim, surge uma grande preocupação a respeito da seleção de genes de resistência em bactérias presentes na microbiota de animais utilizadas como fonte de alimento e da possibilidade da transferência destes genes para bactérias do trato intestinal humano.

Devido às mudanças constantes no perfil e no padrão de multirresistência que as enterobactérias sofrem nas criações de suínos, torna-se fundamental o monitoramento das características de resistência fenotípicas e genotípicas desses agentes patogênicos.

Finalizando, faz-se referência que a presente tese é composta de três artigos:

O 1º Artigo (***Escherichia coli* enterohemorrágica e perfil de resistência antimicrobiana de suínos, criados na Amazônia oriental, Brasil**), será publicado na **Revista de Ciências Agrárias (Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences)**,

e trata principalmente do aspecto clínico da infecção da *Escherichia coli* enterohemorrágica verificada em propriedades localizadas no Estado do Pará.

O 2º Artigo (***Escherichia coli* patogênicas e perfil de resistência antimicrobiana em suínos criados na Amazonia oriental, Brasil**) que destaca a ocorrência dos patótipos da *E. coli* na espécie suína diagnosticados a partir da técnica PCR multiplex, o perfil dos animais acometidos, bem como a resistência à antimicrobianos e fatores de risco para infecção.

O 3º artigo (***Salmonella* sp. em suínos criados no Estado do Pará**) relata a ocorrência da *Salmonella* sp. na espécie suína diagnosticado a partir da técnica PCR, os sorotipos encontrados, o perfil dos animais em que o patógeno foi isolado, bem como a resistência desses microorganismos à antimicrobianos.

Adicionalmente, outro artigo científico que abordará a parte do sequenciamento das amostras será elaborado, já que os resultados ainda estão sendo processados.