

PERFIL SOROLÓGICO E DE ISOLAMENTO DE *Salmonella* sp. EM SUÍNOS NO INÍCIO DA TERMINAÇÃO E AO ABATE

MONIKA MÜLLER,¹ PATRÍCIA SCHWARZ,² JALUSA DEON KICH³ E MARISA CARDOSO⁴

1. Mestre pelo Programa de Pós-Graduação Microbiologia Agrícola e do Ambiente da Universidade Federal do Rio Grande do Sul

2. Médica veterinária, MSc, Boehringer Ingelheim do Brasil

3. Pesquisadora da Embrapa Suínos e Aves

4. Professora titular do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Universidade Federal do Rio Grande do Sul

RESUMO

Estudos que elucidem a cadeia de transmissão de *Salmonella enterica* nos sistemas de produção de suínos são importantes para que seja possível implementar programas de controle da infecção. O objetivo deste estudo foi comparar o índice de animais positivos para *Salmonella* sp. no início da fase de terminação e ao abate e identificar possíveis fontes de contaminação no período. Em três granjas terminadoras, coletaram-se: suabes de superfície nas baias e nos silos durante o vazio sanitário; amostras de fezes e sangue dos animais no dia do alojamento; alíquotas de todos os lotes de ração e amostras de sangue, linfonodos mesentéricos (LM) e conteúdo intestinal (CI) ao abate. As amostras de sangue foram submetidas a teste de ELISA-LPS para *Salmonella* Typhimurium. Nas demais amostras, pesquisou-se a presença de *Salmonella* sp. As amostras de ração foram

adicionalmente submetidas à técnica da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) amplificando o gene *invA*. Todos os animais foram negativos para presença de *Salmonella* sp. nas fezes no início da terminação; entretanto, em duas granjas havia animais soropositivos (12% e 28%, respectivamente). Em duas granjas havia contaminação residual no ambiente e na terceira granja, em um dos lotes de ração, detectou-se a presença de *Salmonella* sp. pela PCR. Ao abate, acima de 90% dos animais foram positivos no teste de ELISA-LPS, sendo que em todos os lotes encontrou-se um número variável (12-92%) de portadores em LM e CI. A partir disso, concluiu-se que a terminação foi a fase crítica para a amplificação da infecção por *Salmonella* sp., sendo a presença residual do microrganismo na granja e o fornecimento de ração contaminada fontes prováveis de infecção.

PALAVRAS-CHAVES: Abate, isolamento, *Salmonella*, sorologia, suíno, terminação.

ABSTRACT

SEROLOGY AND ISOLATION OF *SALMONELLA* SP. IN PIGS AT THE FINISHING SITE AND AT SLAUGHTER

Studies assessing the *Salmonella* transmission chain in pig herds are the first step to start a control program. The aims of this study were to compare the prevalence of *Salmonella* positive pigs at the beginning of the finishing phase and at slaughter, and to identify the possible sources of contamination in the farms. In three finishing farms, environmental swabs from the barns and from the feed silos were collected during the sanitary emptiness. Furthermore, samples of feces and blood from the animals on the day of housing; and aliquots from all feed lots were

taken. At slaughter, blood, mesenteric lymph nodes (LM) and intestinal content (CI) were sampled. Blood samples were submitted to a *S. Typhimurium* ELISA-LPS test. All other samples were submitted to a *Salmonella* isolation protocol. Feed samples were also submitted to Polymerase Chain Reaction (PCR) targeting the *invA* gene. Feces samples from all pigs were *Salmonella* negative at the beginning of the finishing phase, in two farms seropositive animals were found. In two farms, residual environmental contamination was detected, and, in the third farm, one of

the feed batches was *Salmonella* positive on the PCR assay. At slaughter, over 90% of the animals were positive on the ELISA-LPS test and, in all cohorts, a variable number (12%-92%) of carriers in LM and CI was detected. From this on, it was concluded that the finishing phase was

critical for the amplification of *Salmonella* infection, and the residual environmental contamination in the farms as well as *Salmonella* positive feed batches were the probable infection sources.

KEY WORDS: Isolation, finishing and slaughter, *Salmonella*, serology, swine.

INTRODUÇÃO

A presença de *Salmonella* sp. em sistemas de produção de suínos tem sido uma preocupação mundial, tanto por razões relacionadas à saúde pública como por barreiras econômicas resultantes da presença desse microrganismo nos produtos. Na região sul do Brasil a presença de *Salmonella* sp. em rebanhos suínos, bem como em carcaças e produtos de origem suína, tem sido reportada (BESSA et al., 2004; KICH et al., 2005).

A infecção de lotes suínos pode ocorrer em qualquer fase zootécnica (VAN DER WOLF et al., 2001; LO FO WONG et al., 2004), porém no Rio Grande do Sul a fase de terminação tem demonstrado ser um ponto crítico de amplificação da infecção por *Salmonella* sp. em suínos (SILVA et al., 2006). Uma das dificuldades para o planejamento e implementação de programas de controle é a multiplicidade de fontes de introdução de *Salmonella* sp. nas granjas de terminação. Dentre as fontes mais citadas, encontram-se o alojamento de animais portadores que sofreram infecção na fase de creche, a contaminação residual das instalações, a presença de roedores, vetores e pássaros e o fornecimento aos animais de lotes de ração contaminada (VAN DER WOLF et al., 2001; LO FO WONG et al., 2004; KICH et al., 2005).

Para enfrentar o problema da presença de suínos portadores ao abate e o risco de contaminação das carcaças durante o processamento, há necessidade de identificação dos fatores de risco associados à infecção e a implementação de medidas de controle nos rebanhos. O objetivo do presente estudo foi acompanhar lotes de terminação e avaliar possíveis fontes de infecção por *Salmonella* sp. em granjas de terminação.

MATERIAL E MÉTODOS

Desenvolveu-se estudo longitudinal, acompanhando três lotes de suínos em fase de terminação, em propriedades localizadas na região da Serra do Rio Grande do Sul. As granjas, que dispunham de um galpão para alojamento de trezentos animais, obedecendo a uma lotação de dez a doze animais por baía, adotavam o manejo *all in/all out* e utilizavam ração fornecida por empresa integradora.

Os lotes foram monitorados quanto à infecção por *Salmonella* sp. no início da fase de terminação e ao abate. Da mesma forma, verificou-se a contaminação do ambiente da granja, antes do alojamento dos animais, e dos lotes de ração fornecidos aos animais durante todo o período de terminação.

Realizaram-se amostragens dos silos e das baias após a desinfecção da granja e antes do alojamento dos animais. Para amostragem dos silos, foram colhidos cinco suabes, em área aproximada de 100 cm² na superfície interna do silo, numa profundidade entre um e dois metros a partir da extremidade superior deste. Colocaram-se os suabes num mesmo saco plástico, dando origem a um *pool* de suabes de silo da granja. Para amostragem do ambiente da granja, em cinco baias, foram colhidos seis suabes do piso de cada baía, os quais deram origem a um *pool* de suabes de piso.

No dia em que os animais foram alojados, procedeu-se à coleta de amostras de fezes e sangue de 25 animais por granja. Em cada granja, foram colhidas aproximadamente 100 gramas de fezes de cinco animais alojados em cinco baias distintas. Quatro baias escolhidas localizavam-se em cada uma das extremidades do galpão e a quinta baía era central. Em cada uma das baias, reuniram-se os animais, sendo coletadas fezes de cinco animais que defecavam naquele momento. Posteriormente

te, as amostras foram processadas em forma de *pool* de fezes de cinco animais. Colheram-se as amostras de sangue (8 mL) por punção jugular dos mesmos animais, as quais foram identificadas e mantidas sob refrigeração até a chegada ao laboratório. Essas amostras foram centrifugadas a 600 x g por dez minutos e o soro congelado para posterior análise sorológica.

Durante o período de terminação, as granjas incluídas no estudo receberam cerca de quinze lotes de ração, sendo colhidas amostras de todos os lotes. Para tanto, ao ser descarregada no silo, a ração tinha cinco porções colhidas com intervalo de aproximadamente um minuto, na tentativa de abranger diferentes frações do total do lote. Acondicionadas em sacos plásticos, identificaram-se as amostras de acordo com a data de recebimento na propriedade e lote de produção. De cada amostra foram retiradas, no momento do processamento, três alíquotas de 25 gramas, submetidas individualmente ao protocolo de isolamento

Efetou-se a coleta das amostras no frigorífico vinculado ao sistema de integração das granjas. Os três lotes foram abatidos no mesmo dia, sendo amostrado um animal a cada dez minutos, perfazendo 25 animais em cada lote. Colheram-se as amostras de sangue no momento da sangria, sendo identificadas e mantidas sob refrigeração até a chegada ao laboratório, onde foram centrifugadas a 600 x g por dez minutos e o soro congelado para posterior análise sorológica. Ainda no frigorífico, amostras de conteúdo intestinal e linfonodos mesentéricos foram colhidas e acondicionadas em sacos plásticos individuais, identificados e mantidos sob refrigeração até o processamento.

O isolamento de *Salmonella* sp. foi feito seguindo protocolo descrito (MICHAEL et al., 2003; BESSA et al., 2004), compreendendo pré-enriquecimento em água peptonada tamponada, enriquecimento seletivo nos caldos Rappaport-Vassiliadis (Merck) e Tetracionato (Merck) e isolamento em ágar XLT4 (Difco) e Bile-Lactose-Sacarose (BPLS, Merck). Enviaram-se isolados confirmados como *Salmonella* sp. à Fundação Instituto Oswaldo Cruz para sorotipificação.

Para a realização do teste de reação em cadeia da polimerase (PCR), foi utilizado o par

de *primers* 139 (5' GTGAAATTATC GCCACGTTTCGGGCAA 3') e 141 (5' TCATCGCACCGTCAAAGGAACC 3'), que amplifica um fragmento de 284 bp do gene *invA* de *Salmonella* sp. (GALÁN et al. 1992; RAHN et al., 1992). Desenvolveram-se a extração de DNA e a amplificação como anteriormente descrito por OLIVEIRA et al. (2003).

As amostras de soro colhidas dos animais foram enviadas à Embrapa Suínos e Aves, onde foram submetidas a teste de ELISA contendo antígenos lipopolissacarídicos do sorovar Typhimurium, como descrito por KICH et al. (2007), utilizando como ponto de corte a densidade ótica 0,169.

O número de animais positivos no teste de ELISA-LPS para *Salmonella* sp. no início da terminação e ao abate foram comparados pelo Teste Exato de Fisher, com nível de significância $P < 0,05$ (SPSS, 1998).

RESULTADOS

Todos os suabes coletados nos silos mostraram-se negativos para *Salmonella* sp. Em dois dos treze *pools* de suabes de piso foi possível isolar *Salmonella* sp. As amostras positivas eram provenientes de duas granjas diferentes (Granjas 1 e 3), indicando que elas apresentavam contaminação residual por *Salmonella* sp. Identificaram-se os isolados provenientes do ambiente como *S. Derby* (Granja 1) e *S. Typhimurium* (Granja 2).

No início da terminação, não foi possível isolar *Salmonella* sp. a partir das fezes dos animais amostrados, indicando que esses animais provavelmente não estavam excretando a bactéria. Nas Granjas 1 e 3, houve a presença de animais positivos no teste de ELISA-LPS (Tabela 1).

Todas as 144 alíquotas de ração pesquisadas foram negativas para *Salmonella* sp. no isolamento bacteriológico. No entanto, duas alíquotas, provenientes da Granja 2, mostraram-se positivas na detecção de *Salmonella* sp. pela técnica de PCR.

Os resultados encontrados ao abate (Tabela 1) demonstram que a amplificação da infecção, nos lotes, ocorreu durante a fase da terminação, permanecendo uma percentagem variável de animais positivos no isolamento de *Salmonella* sp. a partir

de linfonodos e conteúdo intestinal ao abate. As 73 cepas de *Salmonella* sp. isoladas ao abate, sendo 34 provenientes de linfonodos mesentéricos e 39 de conteúdo intestinal, foram classificadas em sete

sorovares diferentes (Tabela 2). O sorovar Bredeney indicou ser o mais prevalente, representando 64,3% do total de isolados.

TABELA 1. Número de animais positivos na sorologia e no isolamento de *Salmonella* no início da terminação e ao abate em lotes de suínos de três granjas terminadoras

Lote	Animais (n)	Início da terminação		Abate		
		Sorologia positiva	Isolamento positivo	Sorologia positiva	Isolamento positivo	
					Conteúdo intestinal	Linfonodos
1	25	7 (28%) ^a	0	23 (92%) ^b	14 (56%)	10 (40%)
2	25	0	0	25 (100%)	22 (88%)	19 (76%)
3	25	3 (12%) ^a	0	23 (92%) ^b	3 (12%)	7 (28%)

a,b – letras diversas na mesma linha indicam diferença significativa (P<0,05)

TABELA 2. Resultado da sorotipificação de cepas de *Salmonella* sp. isoladas de conteúdo intestinal (n=34) e de linfonodos mesentéricos (n=39) de suínos provenientes de três granjas do Rio Grande do Sul

Granja	Sorovar (CI)*	n	%	Sorovar (LM)*	n	%
1	Bredeney	7	53,8	Derby	4	44,4
1	Ohio	2	15,3	Enteritidis	2	22,2
1	Worthington	2	15,3	Panama	2	22,2
1	Derby	2	15,3	Bredeney	1	11,1
2	Bredeney	22	95,6	Bredeney	14	73,6
2	Derby	1	4,3	Derby	3	15,7
2	-	-	-	Senftenberg	1	5,2
2	-	-	-	Panama	1	5,2
3	Worthington	2	66,6	Bredeney	3	42,8
3	Derby	1	33,3	Ohio	2	28,5
3	-	-	-	Derby	1	14,2

* CI= conteúdo intestinal; LM= linfonodos mesentéricos.

DISCUSSÃO

No presente estudo fica evidente a importância da fase de terminação na disseminação da infecção por *Salmonella* sp. em granjas suínas. O número de animais reagentes, baixo no início do período, elevou-se sobremodo, registrando-se elevado percentual de positivos por ocasião do abate. Esses resultados confirmam dados anteriores obtidos na mesma região por SILVA et al. (2006).

A excreção ativa de *Salmonella* sp. pode ser originada pelo estresse associado a vários fatores como a superlotação das baias, o jejum, o transporte e a mistura de animais (CLARKE & GYLES, 1993; HURD et al., 2002; ROSTAGNO et al., 2003). Animais infectados no período de creche e submetidos ao estresse de transporte e alojamento na granja de terminação terão grande probabilidade de excretar *Salmonella* sp. e apresentar isolamento do microrganismo a partir das

fezes. Entretanto, a excreção de *Salmonella* sp. torna-se intermitente de modo rápido (NIELSEN et al., 1995; VAN WINSEN et al., 2001), o que pode levar à incerteza por ocasião de um teste bacteriológico negativo.

Por essa razão, o teste de ELISA-LPS para detecção de anticorpos contra *Salmonella* sp. tem sido uma das ferramentas mais utilizadas em programas de controle em vários países (NIELSEN et al., 1995; VAN DER GAAG et al., 2004). O teste de ELISA fornece informação sobre a exposição prévia do lote a *Salmonella* sp., sendo o período para a soroconversão de aproximadamente duas semanas (NIELSEN et al., 1995; VAN DER WOLF et al., 2001; VAN DER GAAG et al., 2004). Essa característica impede que o teste possa ser utilizado para determinar a prevalência em um curto espaço de tempo (HURD et al., 2002), pois nem sempre representa a situação atual do rebanho (SWANENBURG et al., 2001). Entretanto, uma vez que tenha ocorrido a soroconversão, os resultados no teste de ELISA não estão sujeitos à variação que se observa no isolamento de *Salmonella* sp. a partir das fezes.

No Brasil, KICH et al. (2007) desenvolveram um teste de ELISA-LPS utilizando antígeno de *Salmonella* Typhimurium, o qual apresenta determinantes antigênicos comuns com os sorovares mais isolados no Rio Grande do Sul e Santa Catarina (BESSA et al., 2004; KICH et al., 2007). O teste desenvolvido foi capaz de detectar tanto animais inoculados artificialmente como contaminados naturalmente, demonstrando que pode ser empregado em programas de controle no país.

No presente estudo, observou-se que os animais apresentaram resultados negativos para isolamento de *Salmonella* sp. a partir de amostras de fezes coletadas no dia de alojamento na granja. Ao lado disso, apenas sete animais na Granja 1 e três suínos alojados na Granja 3 foram positivos no teste de ELISA (Tabela 1). A combinação dos resultados de sorologia e isolamento permite supor que as fases zootécnicas anteriores à terminação não contribuíram de forma preponderante para a infecção dos animais.

No entanto, os lotes alojados nas Granjas 1 e 3 foram colocados em um ambiente em que se

constatou a existência de contaminação residual por *Salmonella* sp. De acordo com BERENDS et al. (1996), o “problema *Salmonella*” é basicamente um contínuo ciclo orofecal. Dessa forma, a constatação de contaminação residual, mesmo que em apenas uma baía, representa risco de infecção de todo o lote de animais alojados. Isso porque os animais, em contato com a contaminação residual, ao se infectarem, amplificarão a população de *Salmonella* sp. no seu trato gastrointestinal e excretarão o microrganismo. As fezes dos animais excretoras, por sua vez, aumentarão a contaminação ambiental e serão fonte de infecção para animais alojados em outras baias. A disseminação entre baias, por sua vez, pode ocorrer por valas de escoamento de dejetos, lâmina d’água, insetos e roedores (BERENDS et al., 1996; LO FO WONG et al., 2004; KICH et al., 2005), ou mesmo pela propagação via área a curta distância (OLIVEIRA et al., 2007).

LO FO WONG et al. (2004), ao avaliarem os fatores de risco para infecção por *Salmonella* sp. em lotes de terminação na Europa, concluíram que a produção de suínos no sistema *all in/all out* não previne a introdução de *Salmonella* sp. no rebanho, mas pode ajudar a diminuir a contaminação cruzada entre lotes e permitir a limpeza e desinfecção antes da introdução de novos animais. Entretanto, se não houver um bom programa de desinfecção, haverá a presença residual do agente e risco para os lotes alojados posteriormente.

Na Granja 2 não foi detectada a contaminação ambiental por *Salmonella* sp.. Entretanto, constatou-se a presença do microrganismo em duas alíquotas de um dos lotes de ração fornecida aos animais. A ração tem sido um dos fatores de risco mais referidos para a infecção de lotes suínos por *Salmonella* sp. A forma de apresentação da ração (farelada, líquida, ou peletizada) tem influência na sobrevivência da *Salmonella* sp. antes e durante a passagem pelo trato gastrointestinal do animal (LO FO WONG et al., 2004; KICH et al., 2005), ao passo que rações com presença de *Salmonella* sp. podem ser a fonte de infecção para todo o lote de animais (KICH et al., 2005; SILVA et al., 2006).

Deve-se considerar que os planos de amostragem de ração são um obstáculo para a

detecção de *Salmonella* sp., principalmente em baixos níveis de contaminação. De acordo com HURD et al. (2002), existem maiores chances de detecção quando for utilizado um maior número de repetições. Ao lado disso, é preciso coletar uma amostra que seja representativa do silo, contendo frações em diferentes intervalos durante o descarregamento da ração. No presente estudo, buscou-se diminuir as dificuldades inerentes à amostragem a partir da coleta de várias frações do silo que, após homogeneizadas, foram subdivididas em três alíquotas para aumentar a probabilidade de detecção de *Salmonella* sp. Apesar disso, as 144 alíquotas analisadas foram negativas no isolamento bacteriológico. Em duas amostras detectou-se *Salmonella* sp. por PCR. A maior sensibilidade da PCR, principalmente quando associada ao enriquecimento seletivo em caldo Rappaport-Vassiliadis, já foi relatada anteriormente (OLIVEIRA et al., 2003). Por outro lado, a amplificação obtida pode ser considerada específica, uma vez que produtos de tamanho esperado a partir do gene *invA* foram apontados por RAHN et al. (1992) como presentes unicamente no gênero *Salmonella* sp. Essa característica levou à indicação do gene *invA* como um dos alvos elegíveis para a detecção de *Salmonella* sp. por PCR (MALORNY et al., 2003).

Seja devido ao contato com um ambiente contaminado ou por terem sido alimentados com ração contaminada por *Salmonella* sp., os lotes chegaram ao abate com elevado número de animais soropositivos (94,6%) e uma parcela considerável de animais com isolamento de *Salmonella* sp. a partir de linfonodos mesentéricos (52%) e conteúdo intestinal (46,6%). Os animais portadores, por sua vez, são fonte de infecção para lotes que chegam negativos ao frigorífico (SWANENBURG et al., 2001). Ao lado disso, como já amplamente demonstrado, esses animais constituem o principal fator de risco para a introdução de *Salmonella* sp. na linha de processamento e para contaminação do produto final (SWANENBURG et al., 2001; CASTAGNA et al., 2004).

BESSA et al. (2004) encontraram os sorovares Typhimurium, Bredeney e Agona como os mais prevalentes em suínos abatidos no Rio

Grande do Sul. No presente estudo, o sorovar Bredeney foi o mais encontrado (64,3% dos isolados), porém se notou uma grande variação de sorovares isolados entre os lotes amostrados. De forma geral, observou-se a ocorrência de mais de um sorovar em todos os lotes, bem como uma variação nos sorovares isolados a partir de linfonodos mesentéricos e conteúdo intestinal de animais de um mesmo lote. A infecção com múltiplos sorovares é uma característica que tem sido encontrada tanto dentro de lotes de suínos como em amostras colhidas de um mesmo animal (MICHAEL et al., 2000; BESA et al., 2004; CASTAGNA et al., 2004). Sem dúvida, essa é mais uma indicação da complexidade do ciclo de infecção e reinfecção por *Salmonella* sp. e da dificuldade em estabelecer programas de controle efetivos.

Finalmente, o presente estudo demonstrou que a combinação dos resultados do teste de ELISA-LPS e do isolamento é útil para determinar a fase crítica de infecção por *Salmonella* sp. e sua amplificação. A partir da determinação da fase crítica, é possível propor medidas de intervenção que, também de acordo com os resultados encontrados, devem iniciar por normas de biossegurança, desinfecção e controle da ração fornecida.

REFERÊNCIAS

- BERENDS, B. R.; URLINGS, H. A. P.; SNIDJERS, J. M. A.; VAN KNAPEN, F. Identification and quantification of risk factors in animal management and transport regarding *Salmonella* spp. in pigs. **International Journal of Food Microbiology**, v. 30, p. 37-53, 1996.
- BESSA, M. C.; COSTA, M.; CARDOSO, M. Prevalência *Salmonella* sp. em suínos abatidos em frigoríficos do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 24, n. 2, p. 80-84, 2004.
- CASTAGNA, S. M. F.; SCHWARZ, P.; CANAL, C. W.; CARDOSO, M. Prevalência de suínos portadores de *Salmonella* ao abate e contaminação de embutidos tipo frescal. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32, p. 141-147, 2004.
- CLARKE, R.C.; GYLES, C.L. *Salmonella* sp. In: GYLES, C. L.; CHARLES, O. T. **Pathogenesis of bacterial infections in animals**. 2. ed. Ames: Iowa State University, 1996. p. 133-153.

- GALAN, J.E.; GINOCCHIO, C.; COSTEAS, P. Molecular and functional characterization of the *Salmonella* invasion gene *invA*: homology of *invA* to members of a new protein family. **Journal Bacteriology**, v. 174, p. 4338-4349, 1992.
- HURD, H. S.; MCKEAN, J. D.; GRIFFITH, R.W.; WEASLEY, I.V.; ROSTAGNO, M.H. *Salmonella enterica* infections in market swine with and without transport and holding. **Applied Environmental Microbiology**, v. 68, p. 2375 - 2381, 2002.
- KICH, J. D.; MORES, N.; PIFFER, I. A.; COLDEBELLA, A.; AMARAL, A.; RAMMINGER, L.; CARDOSO, M. Fatores associados à soroprevalência de *Salmonella* em rebanhos comerciais suínos. **Ciência Rural**, v. 35, p. 398-405, 2005.
- KICH, J.D.; SCHWARZ, P.; SILVA, L.E.; COLDEBELLA A. R.V.; CARDOSO, M. Development and application of an enzyme-linked immunosorbent assay to detect antibodies against prevalent *Salmonella* serovars in swine in southern Brazil. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 19, p. 510-517, 2007.
- KRANKER, S.; DAHL, J. Bacteriological and serological examination and risk factor analysis of *Salmonella* occurrence in sow herds, including risk factors for high *Salmonella* seroprevalence in receiver finishing herds. **Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift**, v. 114, p. 350-352, 2001.
- LO FO WONG, D. M. A.; DAHL, J.; WINGSTRAND, A.; VAN DER WOLF, P.J.; VON ALTROCK, A.; THORBERG, B.M. A European longitudinal study in *Salmonella* seronegative and seropositive-classified finishing pig herds. **Epidemiology Infection**, v. 132, p. 903-914, 2004.
- MALORNY, B.; HOORFAR, J.; BUNGE, C.; HELMUTH, R. Multicenter validation of the analytical accuracy of *Salmonella* PCR: towards an international standard. **Applied Environmental Microbiology**, v. 69, p. 290-296, 2003.
- MICHAEL, G.B.; CARDOSO, M.; COSTA, M. Comparison of different selective enrichment steps to isolate *Salmonella* sp. from feces of finishing swine. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 34, p. 138-142, 2003.
- NIELSEN, B.; BAGGENSEN, D.; BAGER, F.; HAUGEGAARD, C.; CHRISTENSEN, H. The serological response to *Salmonella* serovar Typhimurium and Infantis in experimentally infected pigs. The time course followed with an indirect anti-LPS ELISA and bacteriological examinations. **Veterinary Microbiology**, v. 47, p. 205-218, 1995.
- OLIVEIRA, S. D.; RODENBUSCH, C. R.; CÉ, M. C.; ROCHA, S. L. S.; CANAL, C. W. Evaluation of selective and non-selective enrichment PCR procedures for *Salmonella* detection. **Letters in Applied Microbiology**, v. 36, p. 217-221, 2003.
- OLIVEIRA, C. B.; GARCIA, T. B.; CARVALHO, L. F.; GIVISIEZ, P. E. Nose-to-nose transmission of *Salmonella* Typhimurium between weaned pigs. **Veterinary Microbiology**, v. 125, p. 355-361, 2007.
- RAHN, K.; DE GRANDIS, S.A.; CILARKE, R.C.; GALÁN, J.E.; GINOCCHIO, C.; CURTISS III, R.; GYLES, C.L. Amplification of an *invA* gene sequence of *Salmonella typhimurium* by polymerase chain reaction as a specific method of detection of *Salmonella*. **Molecular Cell Probes**, v. 6, p. 271-279, 1992.
- ROSTAGNO, M. H.; HURD, H. S.; MCKEAN, J.D. Preslaughter holding environment in pork plants is highly contaminated with *Salmonella enterica*. **Applied Environmental Microbiology**, v. 69, p. 4489-4494, 2003.
- SILVA, L. E.; GOTARDI, C.; VIZZOTTO, R.; KICH, J. D.; CARDOSO, M. Infecção por *Salmonella* sp. em um sistema integrado de produção de suínos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 4, p. 455-461, 2006.
- SWANENBURG, M.; URLINGS, H. A. P.; SNIJDERS, J. M. A. *Salmonella* in slaughter pigs: prevalence, serotypes and critical control points during slaughter in two slaughterhouses. **International Journal of Food Microbiology**, v. 70, p. 243-254.
- VAN DER WOLF, P. J.; WOLBERS, W. B.; ELBERS, A. R.; VAN DER HEIJDEN, H. M. J. F.; VAN SCHIE, F. W.; HUNNEMAN, W. A.; TIELEN, M. J. M. Herd level husbandry factors associated with the serological *Salmonella* prevalence in finishing pig herds in The Netherlands. **Veterinary Microbiology**, v. 78, p. 205-219, 2001.
- VAN WINSEN, R. L.; VAN NES, A.; KEUZENKAMP, D.; URLINGS, H. A. P.; LIPMAN, L. J. A.; BIESTERVELD, S.; SNIJDERS, J. M. A.; VERHEIJDEN, J. H. M.; VAN KNAPEN, F. Monitoring of transmission of *Salmonella enterica* serovars in pigs using bacteriological and serological detection methods. **Veterinary Microbiology**, v. 80, p. 267-274, 2001.
- VAN DER GAAG, M. A.; VOS, F.; SAATKAMP, H.W.; VAN BOVEN, M.; VAN BECK, P.; HUIRNE, R.B.M. A state-transition simulation model for the spread of *Salmonella* in the pork supply chain. **European Journal of Operational Research**, v. 156, p. 782-798, 2004.