

## AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE *Salmonella* sp NA CRIAÇÃO DE BOVINOS DE LEITE

Diego Generoso<sup>1</sup>  
Helio Langoni<sup>2</sup>

### RESUMO

A pesquisa de agentes com potencial zoonótico em animais de produção constitui uma importante ação de vigilância para garantir o consumo de alimento seguro. *Salmonella* sp. causa grandes prejuízos tanto na produção animal quanto em surtos de infecção envolvendo os alimentos. Os bovinos leiteiros podem se infectar sob forma subclínica. O ambiente constitui um importante meio para a sua manutenção, sendo um fator de risco e responsável pela infecção de novos animais e contaminação dos produtos alimentícios. O objetivo do presente estudo foi avaliar a presença de *Salmonella* sp. em oito propriedades de exploração leiteira no estado de São Paulo, por meio de exame de suabes retais e da pele assim como do local de criação dos animais e do tanque de expansão. Nas condições do presente estudo não foi possível detectar a presença de *Salmonella* nas propriedades estudadas, sugerindo-se novas investigações em maior número de propriedades.

**Palavras chave:** bovinos leiteiros, ambiente, vigilância, salmonelas.

## EVALUATION OF PRESENCE OF *Salmonella* sp IN THE CREATION OF DAIRY CATTLE

### ABSTRACT

The research of potentially zoonotic agents in livestock is an important surveillance action to ensure the safe food. *Salmonella* sp. cause great losses both in production and in animal outbreaks involving food. Dairy cattle can be infected with subclinical form. The environment is an important resource for its maintenance, a risk factor responsible for the infection of new animals and contamination of food products. The aim of this study was to evaluate the presence of *Salmonella* sp. in eight dairy properties in the state of São Paulo, by taking swabs of rectal and skin as well as the environmental of creation of animals and bulk tank. Under the conditions of this study was not detected the presence of *Salmonella* in the properties studied, suggesting further investigations in larger number of properties.

**Key words:** dairy cattle, environment, surveillance, salmonella.

<sup>1</sup> Médico Veterinário Mestrando em Medicina Veterinária. Área de Saúde Animal, Saúde Pública Veterinária e Segurança Alimentar. Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública – FMVZ-UNESP Botucatu/SP, diego\_ma\_ge@hotmail.com.

<sup>2</sup> Professora Titular. Bolsista em produtividade em pesquisa 1A do CNPq. Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública – FMVZ-UNESP Botucatu/SP. Autor para correspondência, Distrito de Rubião Jr, s/n, Botucatu-SP, CEP: 18618-970, telefone: (14)38116270. hlangoni@fmvz.unesp.br.

## EVALUACIÓN DE LA PRESENCIA DE *Salmonella* sp EN LA CREACIÓN DE GANADO LECHERO

### RESUMEN

La investigación de agentes con potencial zoonótico en animales de producción, constituye una importante acción de vigilancia para garantizar el consumo seguro de alimentos. *Salmonella* sp. causa grandes perjuicios tanto en producción animal como en brotes que involucran los alimentos. Los bovinos lecheros pueden ser infectados de forma subclínica. El ambiente es un medio importante para su manutención, siendo un factor de riesgo responsable por la infección de nuevos animales y contaminación de los productos alimenticios. El objetivo del presente estudio fue evaluar la presencia de *Salmonella* sp. en ocho propiedades lecheras del estado de São Paulo, utilizando isopados rectales y de la piel así como del lugar de estabulación de los animales y de los tanques de almacenamiento de leche. En las condiciones de este estudio no se detectó la presencia de *Salmonella* sp. en las propiedades estudiadas, lo que sugiere nuevas investigaciones en un mayor número de propiedades.

**Palabras clave:** bovinos lecheros, ambiente, vigilancia, Salmonellas.

### INTRODUÇÃO

A salmonelose é uma enfermidade causada pela bactéria *Salmonella* sp., pertencente a família Enterobacteriaceae, gram-negativa, móvel (com poucas exceções), aeróbia ou anaeróbia facultativa. Possui uma ampla distribuição, sendo considerada ubíqua, estando presente tanto na natureza como habitando o trato intestinal dos animais e do homem (1).

Causa importante infecção tanto em bezerros quanto em bovinos adultos. É uma das causas de diarreia em bezerros e produz altas taxas de morbidade e letalidade nos animais portadores (2). Pode ser o agente causal de mastite bovina subclínica (3). Zoonose de grande preocupação da indústria de alimentos de origem animal (4), reconhecida como uma importante doença bacteriana de origem alimentar nos humanos, causando casos esporádicos como também surtos (5).

Os surtos de salmonelose não tifoide estão relacionados ao consumo de alimentos de origem animal como leite e seus derivados e produtos de origem aviária (6). Em geral a ligação da fonte de infecção nestes surtos não é identificada (7). No Brasil, são poucos os dados sobre doenças de origem alimentar, apesar de serem descritos a presença de diversos micro-organismos nos alimentos. Segundo Germano (8), há uma subnotificação dos surtos de origem alimentar no Brasil. A investigação de surtos de toxinfecções alimentares é importante para atuar na prevenção e dos consequentes prejuízos (9).

As condições do ambiente em que se obtém o leite podem favorecer a presença e multiplicação de micro-organismos patogênicos, e segundo Oliver et al. (10) fazendas leiteiras são consideradas locais propícios para manutenção de vários agentes responsáveis por toxinfecções alimentares dentre eles *Salmonella* sp., e quando estes estão presentes no leite cru podem potencialmente contaminar a linha de produção ou processamento, bem como os animais da propriedade.

O leite quando não recebe a devida atenção no processo produtivo, pode representar uma via de transmissão de patógenos, para o homem, inclusive os de caráter zoonótico, sendo este um aspecto relevante do ponto de vista de saúde pública (11). Tal fator reforça a importância de programas de controle de mastites, além da obtenção higiênica do leite, garantindo uma melhor qualidade microbiológica do leite produzido e oferecido para o consumo.

É de grande interesse o conhecimento da ocorrência de salmonela nos rebanhos, devido ao seu potencial zoonótico, podendo causar danos sérios a saúde humana e também pelos problemas econômicos nos rebanhos infectados. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a presença de *Salmonella* sp. em oito rebanhos leiteiros do estado de São Paulo, com tanques de expansão próprio, por meio do exame de suabes retais, da pele, da cama dos animais (propriedades com sistema freestall) e do piso do local de criação (criação semi intensiva), do piso da sala de ordenha e de amostras de leite dos tanques de expansão.

## MATERIAL E MÉTODOS

### 1. PROPRIEDADES RURAIS

Foram visitadas oito propriedades leiteiras localizadas em seis municípios no Estado de São Paulo: Araras, Conchas, Espírito Santo do Pinhal, Nova Odessa, São Manuel e São Pedro. Todas as propriedades possuíam tanques de expansão próprio. Os animais utilizados no presente estudo foram das seguintes raças: raça holandesa variedade preta e branca (seis propriedades), raça Jersey (uma propriedade) e Girolanda (uma propriedade), e mantidas em sistema de freestall (três propriedades) e semi-intensivo (cinco propriedades). As análises microbiológicas foram realizadas no laboratório do Núcleo de Pesquisa em Mastites (NUPEMAS), do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP - Campus de Botucatu (SP).

### 2. OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

Foram obtidas amostras de 50 ml de leite do tanque de resfriamento (expansão) de cada propriedade após homogeneização adequada, sob condições higiênicas, utilizando-se conchas de alumínio esterilizadas, acondicionando-se em frascos de vidro esterilizados com tampa rosqueada.

Para a colheita de amostras retais dos animais, foi utilizado suabe estéril, introduzido via retal, friccionando-se levemente por aproximadamente um minuto na mucosa retal em várias direções. Após sua retirada cada suabe teve a parte manuseada cortada e descartada, e foi imediatamente colocado em tubo de ensaio estéril contendo 3,0 ml de solução salina. Para avaliação da presença do agente no ambiente de criação, levou-se em consideração a existência ou não de galpões de freestall. Para a coleta do suabe de freestall, foram escolhidas camas das extremidades e da região central de ambos os lados do galpão, perfazendo oito amostras de camas de cada propriedade. Em propriedades sem freestall, foram coletadas oito amostras dos piquetes dos animais, em locais de maior aglomeração e em locais de alta umidade com presença abundante de fezes. Em todos os casos, os suabes foram friccionados ao redor de 30 segundos, com movimentos circulares em área de ao redor de 400 cm<sup>2</sup>, e em todas as situações foram acondicionados como anteriormente. Foram coletados também suabes da sala de ordenha (entrada e saída da mesma, totalizando dois suabes) e suabes da sala de pré-ordenha (parte superior e parte inferior).

Foram coletadas no total 312 amostras sendo 8 (2,56%) amostras de leite de tanque de expansão, 96 (30,77%) amostras de animais, sendo 48 (15,38%) retal e 48 (15,38%) dos membros posteriores e glúteo, 80 (25,64%) amostras do ambiente de criação, 16 (5,13%) amostras de salas de ordenha e 16 (5,13%) das salas de pré-ordenha.

### 3. EXAME MICROBIOLÓGICO

Para manutenção da qualidade do material coletado, em todas as situações, as amostras foram mantidas em caixa de material isotérmico contendo gelo reciclável, até a chegada ao laboratório, onde foram processadas.

### 3.1. AMOSTRAS DE LEITE E DE SUABES

Para a pesquisa de *Salmonella* sp. no leite, 25 ml de cada amostra foram homogeneizadas em 225 ml de Água Peptonada Tamponada a 1 % durante 30 segundos, incubando por 24 horas a 35°C. O suabe foi homogeneizado com a salina e desta suspensão adicionou-se 1 ml em tubo com 9 ml de água peptonada tamponada a 1% homogeneizando-se durante 30 segundos. Sendo em seguida incubada a 35°C por 24 horas. Tanto da amostra de leite como dos suabes transferiu-se 1 ml da suspensão para tubo de ensaio contendo 10 ml de Caldo Tetrionato (Difco) com iodeto de potássio, incubando-se a 35°C por 24 horas. Outra alíquota de 0,1 ml foi transferida para tubos contendo 10 ml de Caldo Rapaport (Difco), incubando-se a 42°C por 24 horas. Após este período, uma alçada de cada tubo, das diferentes amostras foi semeada em placas de Petri contendo Ágar XLD (Xilose-Lisina-Desoxicolato - Difco) e Ágar SS (*Salmonella-Shigella* - Difco), sendo as placas incubadas a 35°C por 24 horas. A seguir, as colônias suspeitas de *Salmonella* sp. foram submetidas à caracterização bioquímica (12).

## RESULTADOS

Foram isoladas 115 colônias suspeitas de *Salmonella* sp. e estas foram submetidas à confirmação bioquímica. Destas quatro (3,48%) foram *Proteus mirabilis*, uma (0,87%) *Edwardsiella tarda* e 110 (86,96%) não foram identificadas de acordo com os testes bioquímicos realizados. Dos isolados 18 (15,65%) foram a partir dos suabes retais, 22 (19,13%) de suabes dos membros posteriores, 49 (42,61%) do ambiente de criação, sete (6,09%) da sala da pré-ordenha, 12 (10,44%) da sala de ordenha e cinco (4,35%) do tanque de expansão.

## DISCUSSÃO

Os bovinos leiteiros são susceptíveis à infecção por *Salmonella* sp. e a ocorrência nos animais adultos é baixa. Nos animais pesquisados não isolou-se o agente nas fezes, por outro lado Peek et al. (13) verificaram a presença desta bactéria em 45% das 20 propriedades pesquisadas que utilizam o sistema de criação “Free Stall”. Fossler et al (14) e Lanzas (15) demonstram que o bovinos leiteiros possuem uma baixa prevalência de infecções por salmonela 4,9% e 1,9% respectivamente. Ribeiro et al (16) ao pesquisarem amostras clínicas de fezes de bovinos com diferentes quadros clínicos demonstraram que *Salmonella* sp infecta os bovinos sendo a infecção mais frequente em bezerras.

A presença de *Salmonella* sp. no tanque de expansão não é frequente. Van Kessel et al. (17) ao analisarem 861 amostras de leite provenientes de tanques de expansão de propriedades dos Estados Unidos obtiveram positividade de 2,6% para *Salmonella* sp., e no Canada, Jayarao e Henning (18), obtiveram 6.1% de positividade. A presença de agentes patogênicos no leite é um risco à saúde do consumidor (19). Agentes de potencial zoonótico além das salmonelas, que podem ser veiculados pelo leite in natura, como *Listeria monocytogenes*, *E. coli* e *Yersinia enterocolitica* podem ser encontrados em amostras de leite de tanques (18).

No presente estudo encontrou-se a partir das amostras do ambiente de criação a maior percentagem de isolados (42,61%), com características sugestivas de *Salmonella* spp. A

microbiota presente no ambiente é rica e os agentes patogênicos podem permanecer por período prolongado de tempo, especialmente se há condições de temperatura e umidade favoráveis (20). Eles representam uma fonte de contaminação microbiana para os alimentos e fontes de água utilizados no processo de criação (21).

Uma ampla microbiota presente no tipo de material pesquisado pode se desenvolver, de acordo com a metodologia empregada, que utilizou pré-enriquecimento e meios seletivos para facilitar o crescimento de *Salmonella* sp. De acordo com Hoben et al. (22) e Littel (23) estes mesmos micro-organismos podem também suprimir o crescimento de *Salmonella* sp. Pela presença de microbiota abundante, ou a presença de contaminantes, principalmente nas amostras de fezes, o potencial inibitório é maior e capaz de subestimar a frequência de isolamento de outros micro-organismos patogênicos, sendo que este fato pode representar riscos à saúde pública. De acordo com Nero (24) quando se melhora a qualidade microbiológica do leite, é possível aumentar a frequência de isolamento de outros micro-organismos patogênicos, incluindo-se salmonelas.

## CONCLUSÃO

Nas condições do presente estudo não se isolou *Salmonella* sp. em nenhum dos locais pesquisados, das oito propriedades estudadas.

## REFERÊNCIAS

1. Franco BDGM, Landgraf M. Microbiologia de alimentos. São Paulo: Atheneu; 1996.
2. Veling J, Barkema HW, Van Der Schans J, Van Zijderveldb F, Verhoeffa J. Herd-level diagnosis for *Salmonella enterica* subsp *enterica* serovar Dublin infection in bovine dairy herds. *Prev Vet Med.* 2002;53:31-42.
3. Langoni H, Pinto MP, Domingues PF, Listoni FJP. Etiologia e sensibilidade bacteriana da mastite bovina. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 1991;43:507-15.
4. Gerdien VS, Don K, Veling J, Stegeman A. Transmission of *Salmonella* in dairy herds quantified in the endemic situation. *Vet Res.* 2007;38:861-9.
5. Mead PS, Slutsker L, Dietz V, Mccaig LF, Bresee JS, Shapiro C, et al. Food-related illness and death in the United States. *Emerg Infect Dis.* 1999;5:607-25.
6. Mazurek J, Salehi E, Propes D, Holt J, Bannerman T, Nicholson LM, et al. A multistate outbreak of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium infection linked to raw milk consumption- Ohio. *J Food Prot.* 2003;67:2165-70.
7. Ruzante JM, Lombard JE, Wagner B, Fossler CP, Karns JS, Van Kessel J, et al. Factors associated with *Salmonella* presence in environmental samples and bulk tank milk from US dairies. *Zoonosis Public Health.* 2010;57:217-25.
8. Germano PML. Prevenção e controle das toxinfecções de origem alimentar. *Hig Aliment.* 1993;7:6-11.
9. Anderson JB, Shuster TA, Hansen KE, Levy AS, Volk A. A camera's view of consumer food-handling behaviors. *J Am Diet Assoc.* 2004;104:186-91.

10. Oliver SP, Jayarao BM, Almeida RA. Foodborne pathogens in milk and the dairy farm environment: food safety and public health implications. *Foodborne Pathog Dis.* 2005;2:115-29.
11. Langoni H, Silva AV, Cabral KG, Domingues PF. Aspectos etiológicos na mastite bovina: flora bacteriana aeróbica. *Rev Bras Med Vet.* 1998;20:204-9.
12. Krieg NR, Holt JG. *Bergey's manual of systematic bacteriology.* London: Williams and Wilkins; 1984.
13. Peek SF, Hartmann FA, Thomas CB, Nordlund KV. Isolation of *Salmonella* spp from the environment of dairies without any history of clinical salmonellosis. *J Am Vet Med Assoc.* 2004;225:574-7.
14. Fossler CP, Wells SJ, Kaneenec JB, Ruegg PL, Warnick LD, Eberlyb LE, et al. Cattle and environmental sample-level factors associated with the presence of *Salmonella* in a multi-state study of conventional and organic dairy farms. *Prev Vet Med.* 2004;67:39-53.
15. Lanzas C, Warnick LD, James KL, Wright EM, Wiedmann M, Gröhn YT. Transmission dynamics of a multidrug-resistant *Salmonella typhimurium* outbreak in a dairy farm. *Foodborne Pathog Dis.* 2010;7:467-74.
16. Ribeiro MG, Fernandes MC, Paes AC, Siqueira AK, Pinto JPAN, Borges AS. Caracterização de sorotipos em linhagens do gênero *Salmonella* isoladas de diferentes afecções em animais domésticos. *Pesqui Vet Bras.* 2010;30:155-60.
17. Van Kessel JS, Karns JS, Gorski L, Mccluskey BJ, Perdue ML. Prevalence of *Salmonellae*, *Listeria monocytogenes*, and fecal coliforms in bulk tank milk on US dairies. *J Dairy Sci.* 2004;87:2822-30.
18. Jayarao BM, Henning DR. Prevalence of foodborne pathogens in bulk tank milk. *J Dairy Sci.* 2001;84:2157-62.
19. Lamps LW. Pathology of food-borne infectious diseases of the gastrointestinal tract: an update. *Adv Anat Pathol.* 2003;10:319-27.
20. Davies RH. A two year study of *Salmonella typhimurium* DT 104 infection and contamination on cattle farms. *Cattle Pract.* 1997;5:189-94.
21. Greene SK, Daly ER, Talbot EA, Demma LJ, Holzbauer S, Patel NJ, et al. Recurrent multistate outbreak of *Salmonella newport* associated with tomatoes from contaminated fields. *Epidemiol Infect.* 2008;136:157-65.
22. Hoben DA, Ashton DH, Peterson AC. Some observations on the incorporation of novobiocin into Hektoen enteric agar for improved *Salmonellae* isolation. *Appl Microbiol.* 1973;26:126-7.
23. Littell AM. Plating medium for differentiating *Salmonella arizonae* from other *Salmonellae*. *Appl Environ Microbiol.* 1977;33:485-7.

24. Nero LA. *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp em leite cru produzido em quatro regiões leiteiras no Brasil: ocorrência e fatores que interferem na sua detecção [tese]. São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental, Universidade de São Paulo; 2005.

**Recebido em: 26/05/11**

**Aceito em: 27/10/11**