

# *Salmonella*: importância na indústria de alimentos

Prof. Dr. Eduardo Cesar Tondo  
ICTA/UFRGS

- *Salmonella* é um dos principais patógenos de alimentos no mundo.



...e o seu controle envolve grandes investimentos das indústrias e de governos de muitos países.

# A Salmonelose no mundo

No mundo, em 1995, foram estimados 1,3 bilhões de casos de Salmonelose e 3 milhões de mortes anuais (Humphrey, 2004, in Nature);

*Salmonella* é a principal causa de DTA reportada, sendo que *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium* são os as mais comumente associadas com infecções humanas (USDA, 2019);

Na União Europeia, em 2017, mais de 91.000 casos de salmonelose (EFSA, 2019).



# Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil Informe 2018

Ministério da Saúde  
Secretaria de Vigilância em Saúde  
Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis  
Coordenação Geral de Doenças Transmissíveis

Fevereiro de 2019

/Users/fredlobo/Desktop/fundo:  
padrao 2019.jpg



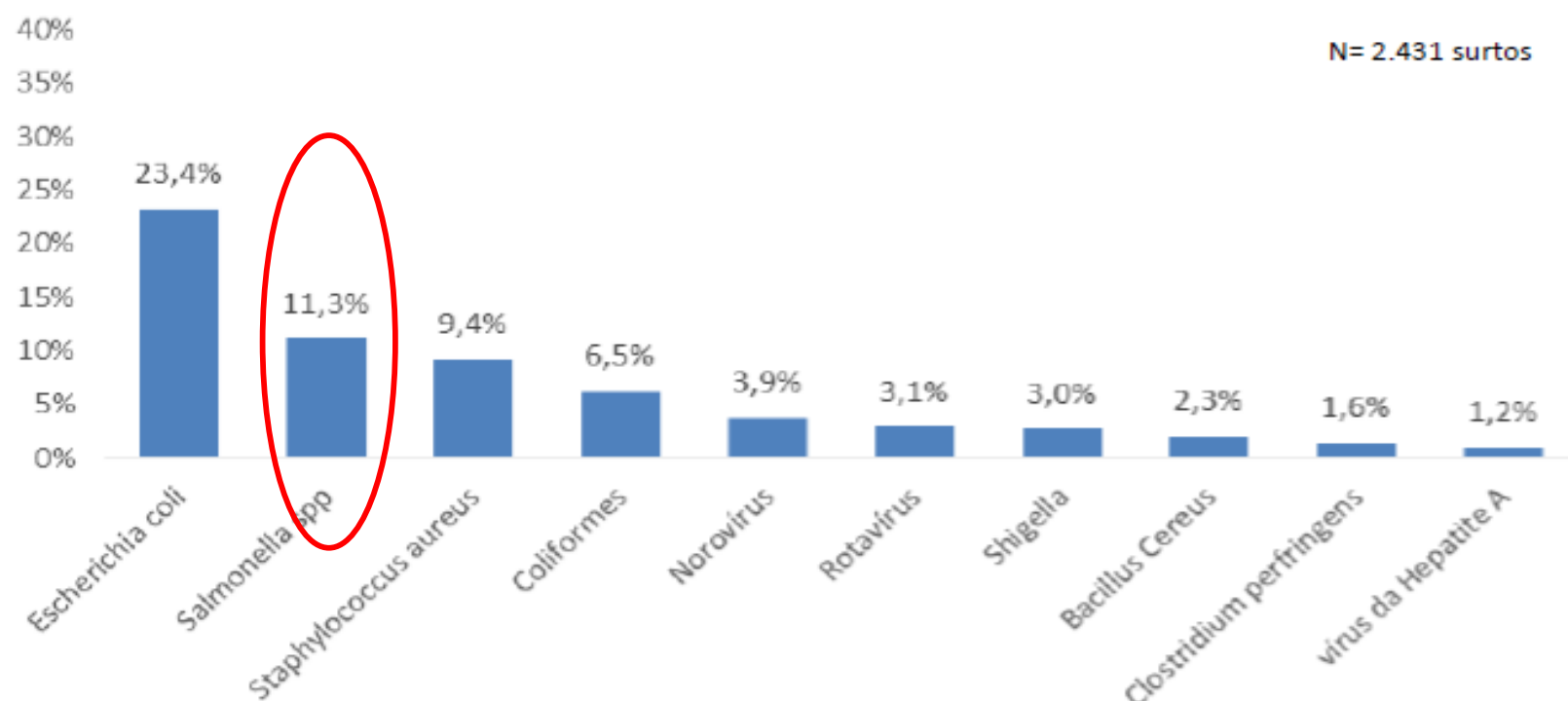
MINISTÉRIO DA  
SAÚDE



[www.saude.gov.br/svs](http://www.saude.gov.br/svs)

# Perfil Epidemiológico

Distribuição dos 10 agentes etiológicos mais identificados nos surtos de DTA<sup>2</sup> Brasil, 2009 a 2018\*.



O controle de *Salmonella* nas indústrias do Brasil é bastante grande e deve aumentar ainda mais...



# Revisão da RDC 12/2001 - ANVISA

5. CARNE DE AVES <sup>2</sup>					
Categorias Específicas	Micro-organismos/Toxinas/Metabólitos	n	c	m	M
a) Carnes ou miúdos crus, temperados ou não, refrigerados ou congelados	<i>Salmonella</i> Enteritidis/25g	5	0	Aus	-
	<i>Salmonella</i> Typhimurium <sup>1</sup> /25g	5	0	Aus	-
	<i>Escherichia coli</i> /g	5	3	5x10 <sup>3</sup>	5x10 <sup>3</sup>
	Aeróbios mesófilos/g, exceto miúdos	5	3	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>
	Aeróbios mesófilos/g, somente para miúdos	5	3	5x10 <sup>3</sup>	5x10 <sup>6</sup>

Das 24 categorias, 22 terão pesquisa de *Salmonella*.

## 8. OVOS

Categorias Específicas	Micro-organismos/Toxinas/Metabólitos	n	c	m	M
a) Ovo íntegro cru (clara e gema)	<i>Salmonella</i> /25g	5	0	Aus	-
b) Gemas, claras, suas misturas ou derivados de ovos, pasteurizados, resfriados, congelados ou desidratados	<i>Salmonella</i> /25g	5	0	Aus	-
	Enterobacteriaceae/g	5	2	10	10 <sup>2</sup>

- O Controle de *Salmonella* envolve toda a cadeia de alimentos, uma vez que o microrganismo pode estar em muitas fontes.





# A alimentação animal



Foto: A. Muller

# Matéria-prima (bovinos)



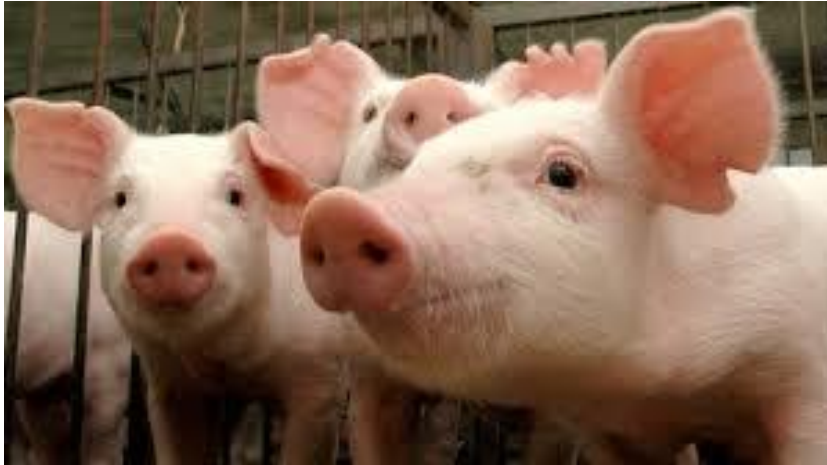
Foto: M. S. de Lima



# frangos e outras aves



# Suíños



# Diversos animais podem ter *Salmonella*, inclusive humanos



**Carne de caça**



**Linda!!**



**Rato**



# Superfícies de equipamentos



# Utensílios e manipuladores



Foto: M. S. de Lima

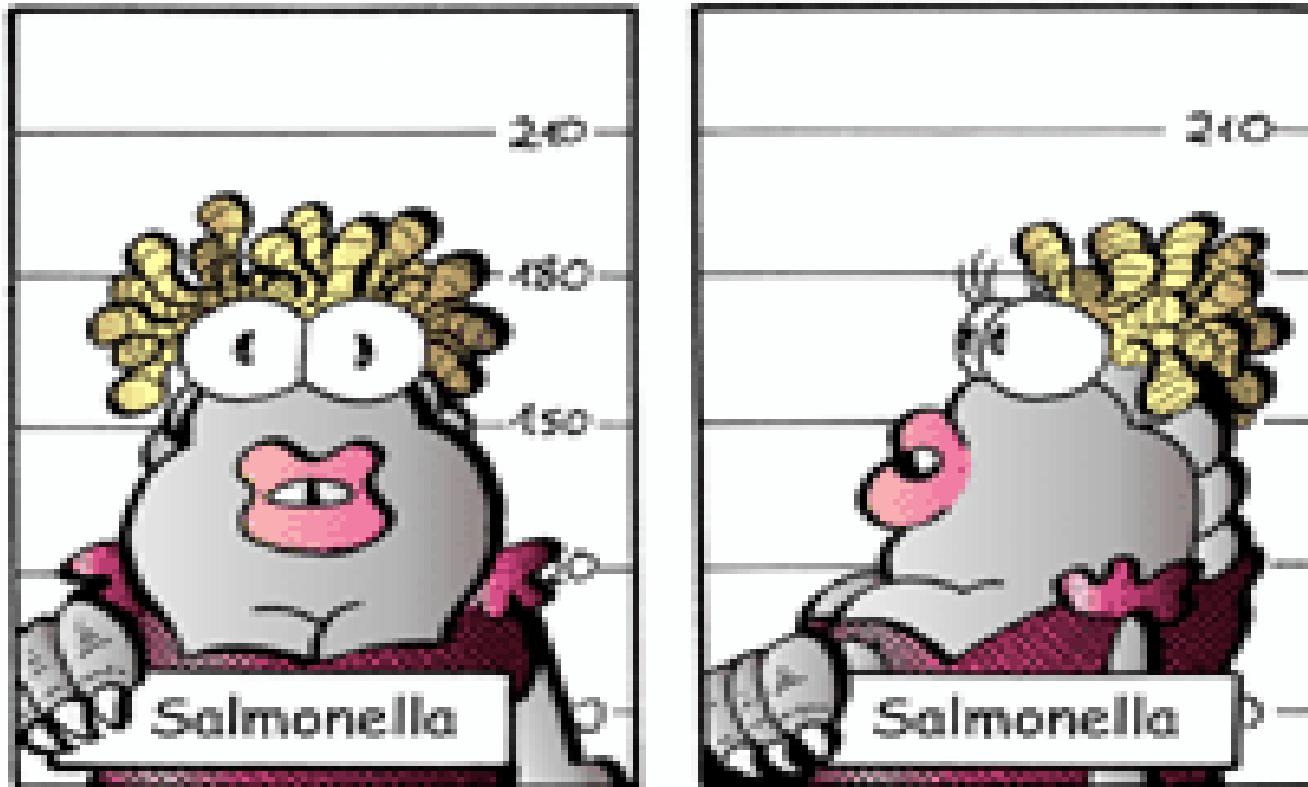


# Ovos e maionese caseira





## *Salmonella*, tem sido um importante causador de surtos no Brasil



# Rio Grande do Sul 1997 a 1999 *Salmonella* como principal agente de DTA, sendo transmitida por maionese caseira (35,7%)

Brazilian Journal of Microbiology (2002) 33:342-346  
ISSN 1517-8382

## SALMONELLOSIS IN RIO GRANDE DO SUL, BRAZIL, 1997 TO 1999

Suzana Costalunga<sup>1</sup>; Eduardo Cesar Tondo<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Divisão de Vigilância Sanitária do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. <sup>2</sup>Departamento de Ciências dos Alimentos, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

Submitted: September 13, 2001; Returned to authors for corrections: March 15, 2002; Approved: December 05, 2002

# Prevalência do sorovar *S. Enteritidis* (97%) nos surtos de Salmonelose do RS de 1999 a 2001

(Geimba et al. 2004 *J. Food. Prot.* 67, 1229-1233)

## **Serological Characterization and Prevalence of *spvR* Genes in *Salmonella* Isolated from Foods Involved in Outbreaks in Brazil**

Mercedes P. Geimba<sup>2</sup>, Eduardo C. Tondo<sup>1\*</sup>, Fernanda A. de Oliveira<sup>1</sup>,

Cláudio W. Canal<sup>3</sup>, and Adriano Brandelli<sup>1</sup>

# Mesmo clone de *S. Enteritidis*, de 1999 a 2006, em alimentos e coprocultura



Contents lists available at ScienceDirect

Food Research International

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/foodres](http://www.elsevier.com/locate/foodres)



## Characterization of *Salmonella* Enteritidis isolated from human samples

Fernanda Arboite de Oliveira<sup>a,b,\*</sup>, Ana Paula Pasqualotto<sup>a</sup>,  
Wladimir Padilha da Silva<sup>b</sup>, Eduardo Cesar Tondo<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Ciências de Alimentos, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos – ICTA/UFRGS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

<sup>b</sup> Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Pelotas – UFPel, Pelotas, Brazil

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 20 July 2010

Accepted 10 September 2010

Available online xxxx

#### Keywords:

*Salmonella* Enteritidis

Foods

PFGE

PCR

Antimicrobial resistance

### ABSTRACT

This study aimed to characterize *Salmonella* Enteritidis (SE) isolated from blood (n = 12) and feces (n = 68) of salmonellosis victims in Southern Brazil. All isolates were submitted to antimicrobial susceptibility testing, PCR-ribotyping, and XbaI macrorestriction Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE). Results demonstrated high levels of ampicillin and nalidixic acid resistance, and strains isolated in different geographic regions were clustered together, presenting a common resistance profile. All strains demonstrated similar and related PCR-ribotyping patterns (R1, R2, and R3); being that the predominant profile R1 grouped 47.5% of the strains. PFGE profile P1 grouped the majority of the strains (96.25%), suggesting a clonal relationship among the strains or inability of molecular typing methods to discriminate strains of this serovar. Results suggested on an increase in antimicrobial resistance and that strains of *S. Enteritidis* with similar PFGE and PCR-ribotyping profiles were involved in several salmonellosis outbreaks in Southern Brazil.

© 2010 Elsevier Ltd. All rights reserved.

# Mesmo perfil genético de 1999 a 2012

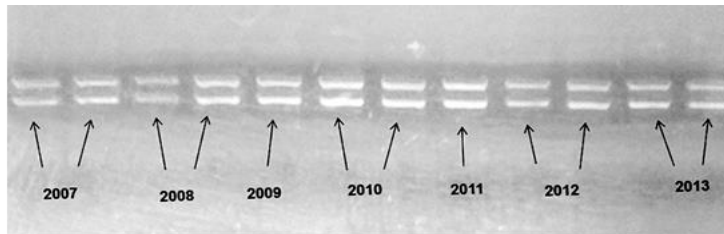
## *Outbreak*

### **Salmonella serotypes, resistance patterns, and food vehicles of salmonellosis in southern Brazil between 2007 and 2012**

Roberta Capalunga<sup>1</sup>, Rosane Campanher Ramos<sup>2</sup>, Jane Mari Correa Both<sup>2</sup>, Mara Lúcia Tiba Soeiro<sup>2</sup>, Solange Mendes Longaray<sup>2</sup>, Simone Haas<sup>2</sup>, Eduardo Cesar Tondo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Food Sciences, Laboratory of Microbiology and Food Control, Federal University of Rio Grande do Sul, Institute of Food Science and Technology (ICTA/UFRGS), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil

<sup>2</sup> Foundation of Production and Health Research of Rio Grande do Sul, Central Laboratory of the State of Rio Grande do Sul (FEEPS/IPB-LACEN/RS), Division of Product Analyses (DAP), Section of Microbiology, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil



# S. Enteritidis do RS

**Tipificação por diversos métodos moleculares,  
PFGE, RAPD, PCR-ribotipificação e  
Sequenciamento de DNA (600kb)**



**Denominação da cepa SE86**

• Por que a mesma cepa de **S. Enteritidis** está causando surtos há mais de uma década no sul do Brasil?



# **Cinética de crescimento de *Salmonella* Enteritidis envolvida em surtos alimentares no RS: uma comparação com linhagens de outros sorovares**

*Growth kinetics of Salmonella Enteritidis involved in outbreaks of foodborne illness in Rio Grande do Sul, southern Brazil: a comparison with other serovar strains*

Patrícia da Silva MALHEIROS<sup>1</sup>, Cheila Minéia Daniel DE PAULA<sup>1</sup>, Eduardo Cesar TONDO<sup>1\*</sup>



*S. Enteritidis* SE86 do RS se multiplica mais rápido que outras *Salmonella* nas 6 primeiras horas de cultivo, em maionese.

(Malheiros, et al., 2007)

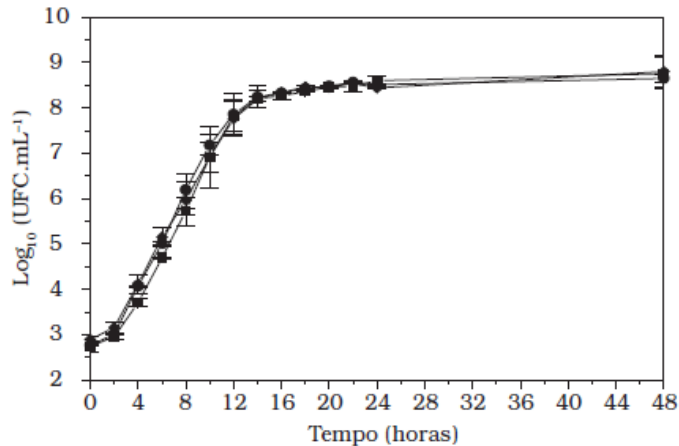


Figura 1. Curva de crescimento, em Caldo Nutriente, na temperatura de 30 °C. *Salmonella* Enteritidis SE86 (◆), *Salmonella* Typhimurium (■), *Salmonella* Bredeney (●). Cada ponto está representado pelo desvio-padrão (n = 4).

## Caldo nutritivo

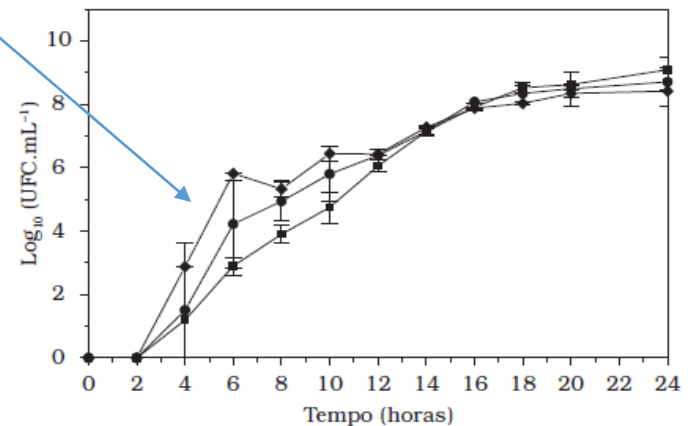


Figura 3. Curva de crescimento, em salada de batata com maionese caseira, na temperatura de 30 °C. *Salmonella* Enteritidis SE86 (◆), *Salmonella* Typhimurium (■), *Salmonella* Bredeney (●). Cada ponto está representado pelo desvio-padrão (n = 4).

## Maionese caseira

## Novas dúvidas...

Além de se multiplicar mais rápido, será que ela resiste mais ao ácido?



Tempero de maionese caseira é vinagre ou limão!

# SE86 resiste mais ao ácido e temperatura, após exposição a pH sub-letal

## **ACID AND THERMAL RESISTANCE OF A *SALMONELLA ENTERITIDIS* STRAIN INVOLVED IN SEVERAL FOODBORNE OUTBREAKS**

P.S. MALHEIROS, A. BRANDELLI<sup>1</sup>, C.P.Z. NOREÑA and E.C. TONDO

*Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
91501-970 Porto Alegre, Brazil*

Accepted for Publication January 30, 2008

(Malheiros et al., 2009)

# Sobrevivência em pH 3,5

Não adaptada

Ácido-adaptada

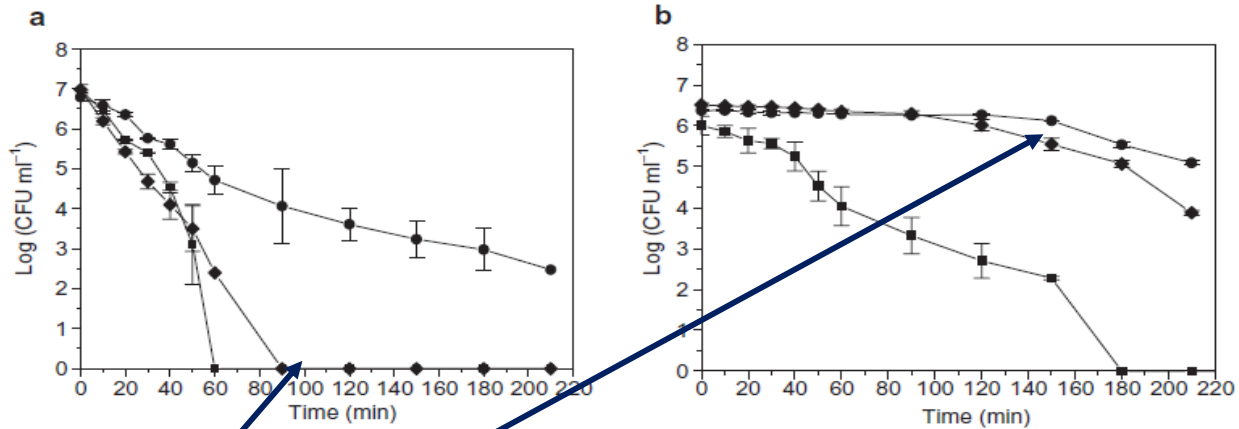


FIG. 1. SURVIVAL OF NONADAPTED (A) AND ACID-ADAPTED (B) *SALMONELLA ENTERITIDIS* (◆), *SALMONELLA TYPHIMURIUM* (■), *SALMONELLA BREDENEY* (●) EXPOSED TO PH 3.5 IN NUTRIENT BROTH. EACH DATA POINT WAS REPRESENTED BY MEAN ± STANDARD DEVIATION (N = 4)

SE86

## **EVALUATION OF INTESTINAL INVASION IN GERM-FREE MICE CHALLENGED WITH ACID-ADAPTED AND NONACID-ADAPTED *SALMONELLA* ENTERITIDIS SE86 AND *SALMONELLA* TYPHIMURIUM ST99**

KARLA J. PEREZ<sup>1,2</sup>, FLAVIANO S. MARTINS<sup>2,3</sup>, DENISE C.M. CARA<sup>3</sup>, JACQUES R. NICOLI<sup>2</sup> and  
EDUARDO C. TONDO<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil

<sup>2</sup>Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil

<sup>3</sup>Departamento de Morfologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil

SE86 ácido-adaptada foi mais  
virulenta que *S. Typhimurium*, em  
camundongos *germ-free*

(morte dos animais em 4 dias, enquanto que a ST99 não causou morte em até 12 dias)

# Higienização ambiental

Será que a *S. Enteritidis* SE86 forma biofilme em aço inox e soldas?



# Adesão de patógenos em soldas MIG e TIG e em aço inoxidável AISI 304 e 316

International Journal of Food Microbiology 191 (2014) 103–108



Contents lists available at ScienceDirect

International Journal of Food Microbiology

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/ijfoodmicro](http://www.elsevier.com/locate/ijfoodmicro)



## Adhesion of *Salmonella* Enteritidis and *Listeria monocytogenes* on stainless steel welds



Letícia Sopena Casarin <sup>a,\*</sup>, Adriano Brandelli <sup>a</sup>, Fabrício de Oliveira Casarin <sup>b</sup>, Paulo Azevedo Soave <sup>c</sup>, Cesar Henrique Wanke <sup>b</sup>, Eduardo Cesar Tondo <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Ciência de Alimentos, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul-ICTA/UFRGS, Av. Bento Gonçalves, 9500/43212, 91501-970 Porto Alegre, Brasil

<sup>b</sup> Instituto de Física, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 9500, 91501-970 Porto Alegre, Brasil

<sup>c</sup> Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais - CEFET-MG, Brasil

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 6 July 2014

Received in revised form 4 September 2014

Accepted 7 September 2014

Available online 16 September 2014

#### Keywords:

Welds

Stainless steel

Bacterial adhesion

*Listeria monocytogenes*

*Salmonella* Enteritidis

### ABSTRACT

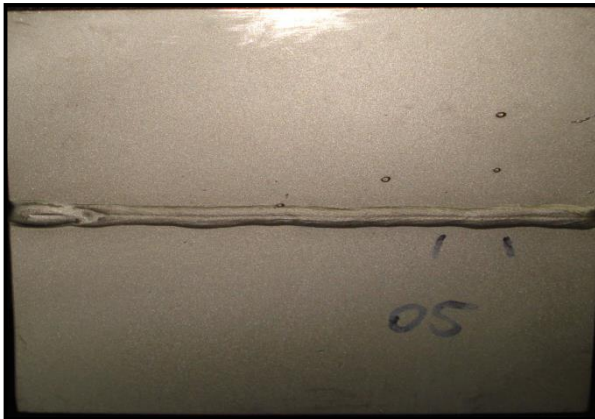
Pathogenic microorganisms are able to adhere on equipment surfaces, being possible to contaminate food during processing. *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* are important pathogens that can be transmitted by food, causing severe foodborne diseases. Most surfaces of food processing industry are made of stainless steel joined by welds. However currently, there are few studies evaluating the influence of welds in the microorganism's adhesion. Therefore the purpose of the present study was to investigate the adhesion of *Salmonella* Enteritidis and *L. monocytogenes* on surface of metal inert gas (MIG), and tungsten inert gas (TIG) welding, as well as to evaluate the cell and surface hydrophobicities. Results demonstrated that both bacteria adhered to the surface of welds and stainless steel at same levels. Despite this, bacteria and surfaces demonstrated different levels of hydrophobicity/hydrophilicity, results indicated that there was no correlation between adhesion to welds and stainless steel and the hydrophobicity.

© 2014 Elsevier B.V. All rights reserved.

As soldas **TIG** e **MIG** são as mais utilizadas (Lewan, 2014).

## Solda MIG

*(Metal Inert Gas)*

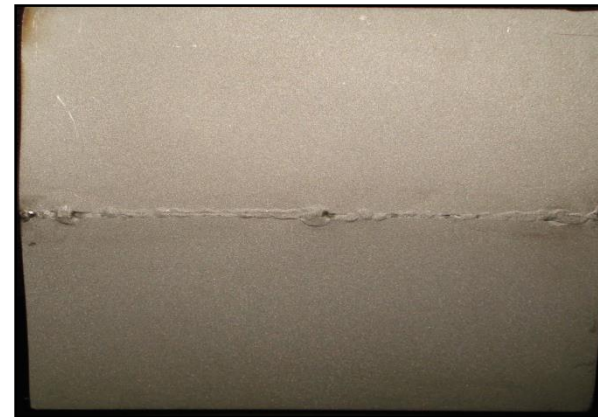


- fácil operação
- alta produtividade
- automatizável
- baixo custo
- menor qualidade

**X**

## Solda TIG

*(Tungsten Inert Gas)*



- difícil operação
- profissional treinado
- maior custo
- maior qualidade

(Dutra, 2008;  
EHEDG, 1993)

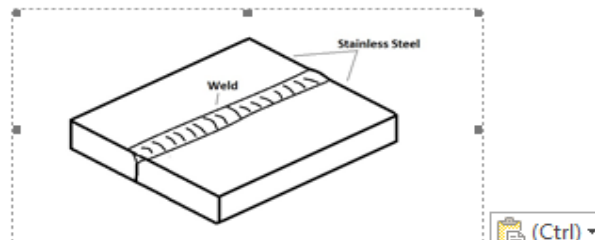


# Soldas polidas e não polidas com rugosidades diferentes

**Table 1:** Materials used in the assays and their characteristics.

Welding Type/ Sample Identification	Treatment	Roughness (Ra)*
MIG 07	unpolished	1.69
MIG 13	polished	4.72
TIG 21	unpolished	1.72
TIG 31	polished	4.92

\*Roughness (Ra) was determined by the welds supplier, using roughness tester.



# O que foi realizado?

*S. Enteritidis* SE86 e *L. monocytogenes*



Inóculo sobre aço inox 304 e 316 e soldas MIG e TIG



Contagem de microrganismos aderidos



Avaliação da hidrofobicidade das células, das superfícies e da rugosidade



Avaliação por Microscopia eletrônica e Força atômica.

# Resultados

- Adesão dos 2 microrganismos em níveis iguais depois de 4 horas, porém a SE86 aderiu mais inicialmente.

*L. monocytogenes*

SE86

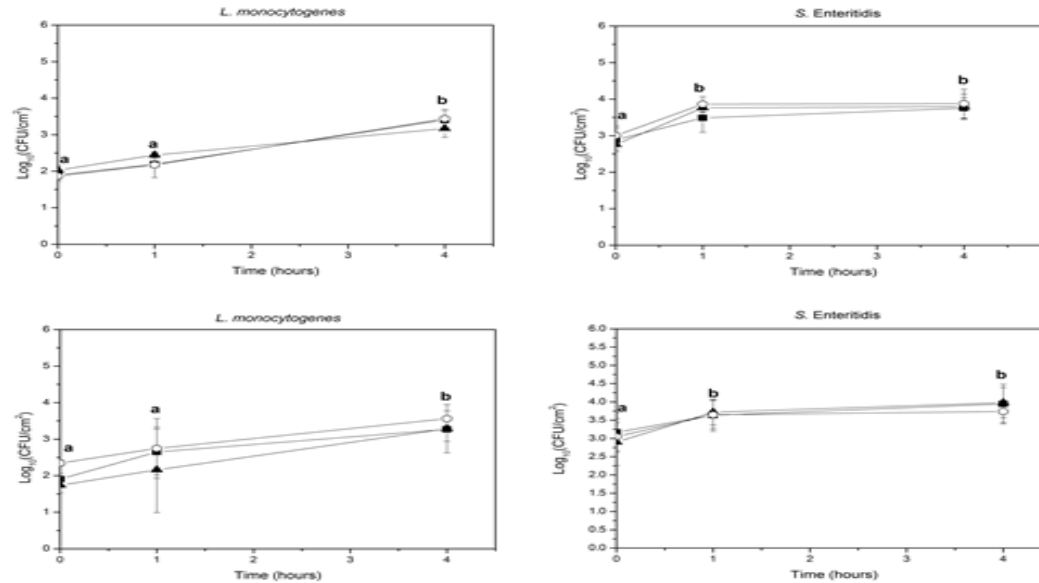
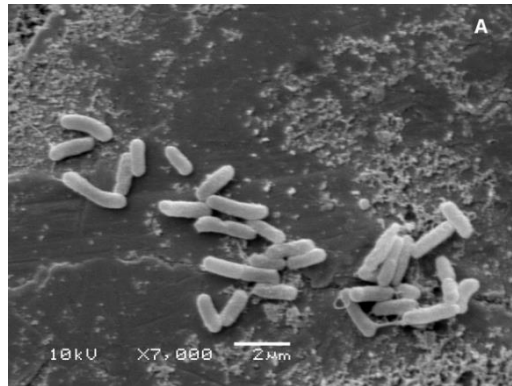


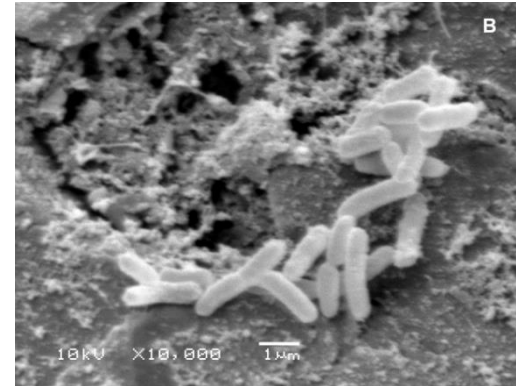
Figure 3: *Salmonella Enteritidis* and *Listeria monocytogenes* adhesion to stainless steel without welding (■) and welds: unpolished MIG welds (▲), polished MIG welds (△) unpolished TIG welds (●) and polished TIG welds (◊) after 0, 1 and 4 h of contact.

# Adesão aleatória sobre as soldas

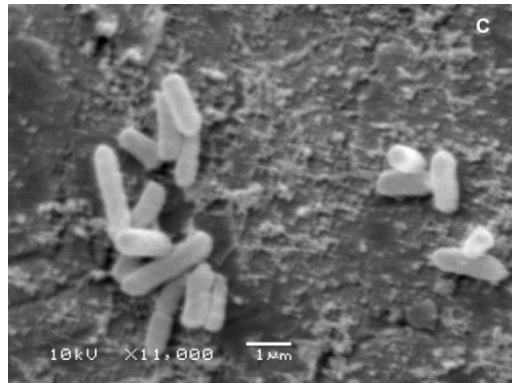
UNIVERSIDADE FEDERAL  
DO RIO GRANDE DO SUL



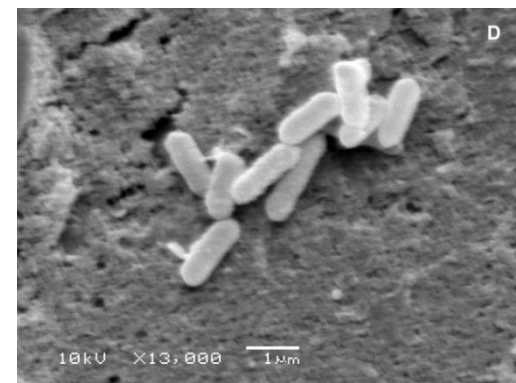
S. Enteritidis (SE 86)  
em solda MIG polida



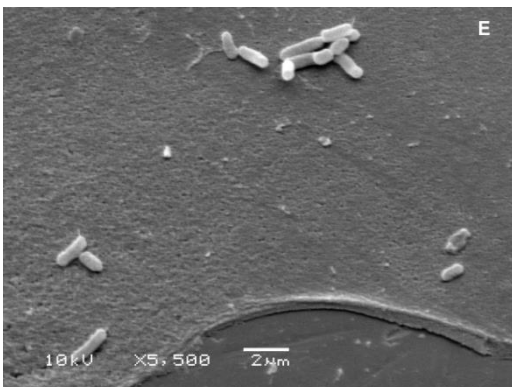
S. Enteritidis (SE 86)  
em solda MIG polida



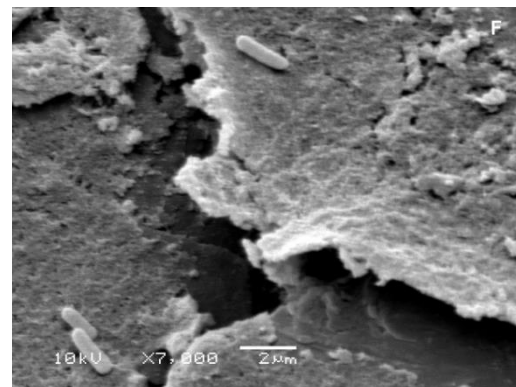
S. Enteritidis (SE 86)  
em solda MIG polida



S. Enteritidis (SE 86)  
em solda TIG não  
polida



S. Enteritidis (SE 86)  
em solda TIG não  
polida



S. Enteritidis (SE 86)  
em solda TIG não  
polida

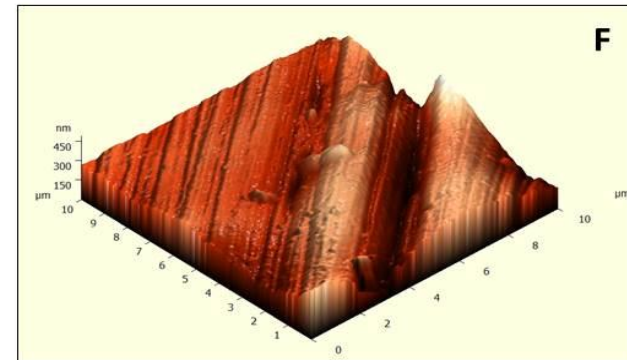
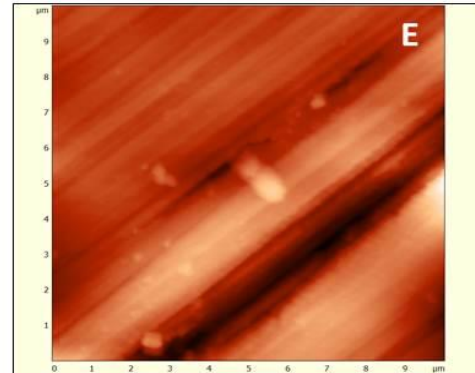
# Resultados

- Mesmo nível de adesão no aço inox AISI 316 e 304;
- Mesmo nível de adesão nas soldas MIG e TIP,  
polidas e não polidas!

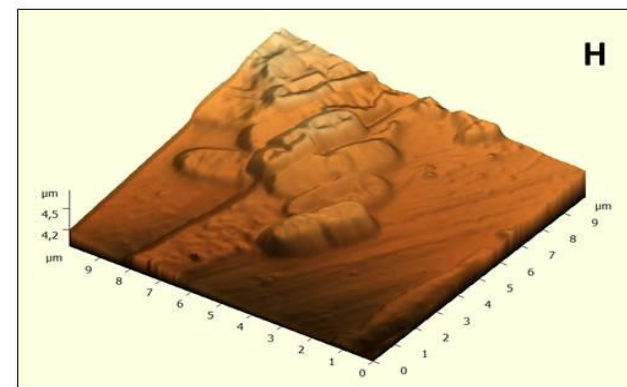
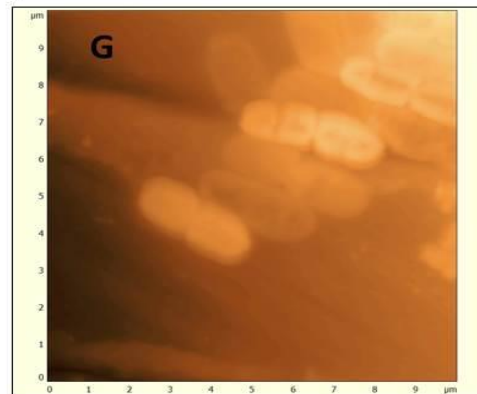


## S. Enteritidis SE86

AISI 304



AISI 316



- ✓ Nenhuma correlação entre a rugosidade da superfície e a adesão microbiana (FLINT 1996; TIDE et al, 1999; CHIA et al, 2009).



# S. Enteritidis SE86 isolada de frangos e surtos

FOODBORNE PATHOGENS AND DISEASE  
Volume 14, Number 12, 2017  
© Mary Ann Liebert, Inc.  
DOI: 10.1089/fpd.2017.2327

**Original Article**

## Phenotypic and Molecular Characterization of *Salmonella* Enteritidis SE86 Isolated from Poultry and Salmonellosis Outbreaks

Karen Apellanis Borges,<sup>1</sup> Thales Quedi Furian,<sup>1</sup> Sara Neves de Souza,<sup>1</sup> Rafaela Menezes,<sup>1</sup> Carlos Tadeu Pippi Salle,<sup>1</sup> Hamilton Luiz de Souza Moraes,<sup>1</sup> Eduardo César Tondo,<sup>2</sup> and Vladimir Pinheiro do Nascimento<sup>1</sup>

# WGS *S. Enteritidis* SE86 e comparação com outras *S. Enteritidis*

International Journal of Food Microbiology 306 (2019) 108269



Short communication

Genome analysis reveals insights into high-resistance and virulence of *Salmonella* Enteritidis involved in foodborne outbreaks



Ana Carolina Ritter<sup>a</sup>, Eduardo Cesar Tondo<sup>a</sup>, Franciele Maboni Siqueira<sup>b</sup>, Alessio Soggiu<sup>c</sup>, Ana Paula Mutterle Varela<sup>d</sup>, Fabiana Quoos Mayer<sup>d</sup>, Adriano Brandelli<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup>Laboratório de Bioquímica e Microbiologia Aplicada, Departamento de Ciência de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

<sup>b</sup>Laboratório de Bacteriologia Veterinária, Departamento de Patologia Clínica Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

<sup>c</sup>Laboratorio di Protonomia dei Microorganismi, Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Milano, Italy

<sup>d</sup>Laboratório de Biologia Molecular, Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor, Departamento de Diagnóstico e Pesquisa Agropecuária, Secretaria da Agricultura Pecuária e Desenvolvimento Rural do RS, Eldorado do Sul, Brazil

- Tamanho do DNA: 4.685,718 pb;
- 4615 genes;
- 176 genes de resposta ao *stress* oxidativo;
- 107 genes de virulência e defesa;
- 74 genes de resistência a antibióticos e compostos tóxicos.

Table 1

General genome features of *S. Enteritidis* SE86, *S. Enteritidis* P125109 and *S. Enteritidis* ATCCBAA-708.

Feature	<i>S. Enteritidis</i> SE86	<i>S. Enteritidis</i> P125109	<i>S. Enteritidis</i> ATCC BAA-708
Size (bp)	4,685,718	4,685,848	4,678,516
Genes (total)	4615	4424	4852
Protein coding genes (CDS)	4615	4318	4518
Pseudogenes	132	133	211
rRNA (5S/16S/23S)	8/7/7	8/7/7	8/7/7
tRNA	83	84	86



- **Aparecimento de *S. Heidelberg*!!**
- (mais resistente que SE86, forma biofilmes, genes de virulência, etc.)



## **Antimicrobial Resistance and PCR-Ribotyping of *Salmonella* Heidelberg Isolated from Chicken Carcasses in Brazil**

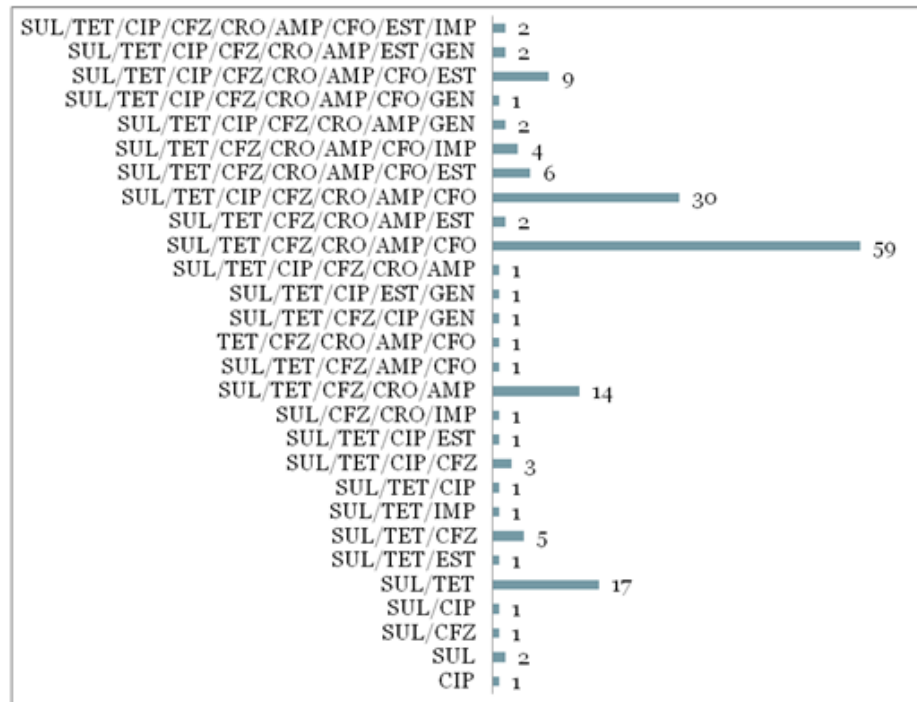
Maria Angélica Thiele Fracassi<sup>1</sup>, Ana Lucia Kern<sup>2</sup>, Débora Vom Endt<sup>2</sup>, Eduardo Cesar Tondo<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Ciências Básicas da Saúde – ICBS/UFRGS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; <sup>2</sup>Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia/UFRGS, Universidade Estadual do Rio Grande do Sul; <sup>3</sup>Departamento de Ciências de Alimentos, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos ICTA/UFRGS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Paper submetido

**Resistência antimicrobiana e PCR-  
Ribotipificação de 173 isolados de *S.*  
Heidelberg isoladas de frango.**

# Resistência antimicrobiana de *S. Heidelberg* de frango



Muitas cepas  
multirresistentes!

Figure 1: Resistance profile of *Salmonella Heidelberg* (n=173) isolated from chicken carcasses produced in Southern Brazil. Ampicillin (AMP); cefazolin (CFZ); cefoxitin (CFO); ceftriaxone (CRO); ciprofloxacin (CIP); chloramphenicol (CLO); streptomycin (EST); gentamicin (GEN) imipenem (IMP); tetracycline (TET); sulfonamide (SUL).

# Várias cepas, diversidade de fontes de contaminação

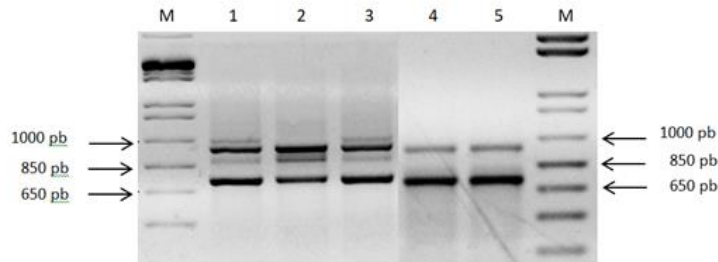


Figure 3: PCR-Ribotyping banding profiles of 173 *Salmonella* Heidelberg

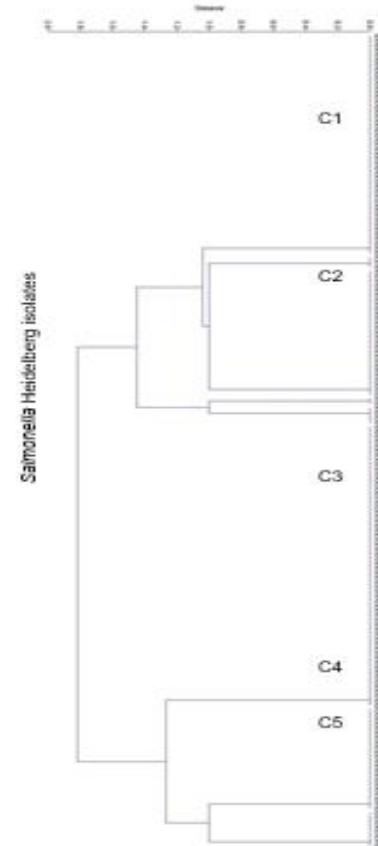


Figure 5: Dendrogram correlating data from molecular typification by PCR- Ribotyping with susceptibility profiles to antimicrobials of 173 *Salmonella* Heidelberg isolated from chicken carcasses.



# Avaliação de risco de *Salmonella* em frangos produzidos sob inspeção federal no Brasil

Doutoranda: Claudia Titze Hessel  
PPGCTA/UFRGS

# Conclusão:

- As indústrias de alimentos do Brasil têm investido muito no controle de *Salmonella*, porém a prevenção desse microrganismo continua trazendo desafios expressivos.



# Para quem trabalhamos!



Prof. Dr. Eduardo Cesar Tondo  
Controle e Microbiologia de Alimentos – ICTA/UFRGS

**Obrigado,**  
Prof. Dr. Eduardo Cesar Tondo  
[tondo@ufrgs.br](mailto:tondo@ufrgs.br)