

**Universidade Estadual do Ceará
Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa
Faculdade de Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias
Ana Paula Oliveira Moreira**

**Pesquisa de *Salmonella* sp. em frangos de corte de um dia
de idade da Região Metropolitana de Fortaleza-CE**

**Fortaleza, Ceará
2002**

**Universidade Estadual do Ceará
Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa
Faculdade de Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias
Ana Paula Oliveira Moreira**

**Pesquisa de *Salmonella* sp. em frangos de corte de um dia
de idade da Região Metropolitana de Fortaleza-CE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias.

Área de concentração: Medicina Veterinária Preventiva ou Reprodução Animal.

Orientador: Dr. William Cardoso Maciel

FORTALEZA-CE

2002

**Universidade Estadual do Ceará
Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa
Faculdade de Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias**

**Pesquisa de *Salmonella* sp. em frangos de corte de um dia de idade
da Região Metropolitana de Fortaleza-CE**

Ana Paula Oliveira Moreira

Aprovada em ____/____/____

Banca Examinadora:

Prof. Dr. William Cardoso Maciel
(Orientador)

Prof. Dr. Nelson Rodrigo da Silva Martins
(Examinador)

Prof^ª.Dr^ª. Salette Lobão Torres Santiago
(Examinadora)

*“O Senhor é como árvore plantada
junto a corrente de águas, que, no
devido tempo, dá o seu fruto, e cuja
folhagem não murcha; e tudo quanto
ele faz, será sempre bem sucedido.”*

Salmo 1:3

Ao grande amor da minha vida,
minha filha Manuella,
Dedico.

AGRADECIMENTOS

No decorrer desta caminhada, contei com a ajuda de várias pessoas, que de uma forma ou de outra buscaram sempre ajudar, às vezes não tão presentes, mas que de sua maneira, deram-me sempre o apoio necessário para vencer. Assim, muito tenho a agradecer e o faço de modo muito especial:

Primeiramente a Deus, pela força interior e por estar sempre presente na minha vida;

Ao Programa de Pós-graduação de Ciências Veterinárias pela oportunidade concedida;

Ao Professor Dr. William Cardoso Maciel, por sua orientação, compreensão e incentivos dados;

Ao Professor Dr. Nelson Rodrigo da Silva Martins e Prof^a Dr^a Salette Lobão Torres Santiago por suas contribuições dadas a este trabalho;

A Prof^a Dr^a Maria de Fátima da Silva Teixeira por todo seu auxílio dispensado durante todo o curso de mestrado;

A todos os professores do Curso de Pós-Graduação que contribuíram para realização deste momento;

A equipe do LABEO e BIOLAB pela ajuda nos exames sorológicos e microbiológicos;

As empresas que permitiram a utilização de seus materiais, sem os quais seria inviável a realização deste trabalho;

A Rosa Patrícia Ramos Salles, por estar sempre presente nos momentos em que precisei, incentivando-me, dedicando-se, sabendo ser companheira, compreensiva e acima de tudo AMIGA;

A Jociery Einhart Vergara-Parente, pelo companheirismo e amizade durante todo o mestrado.

Aos meus pais, Antonio de Paulo Moreira e Antonia Oliveira Moreira, que mesmo distantes, sempre estiveram presentes em todos os momentos da minha vida e meus agradecimentos sinceros por me proporcionarem a formação que hoje tenho.

Aos meus irmãos Fábio, Fabiano e Ana Regina, pelo amor que sempre me deram, o que me impulsiona para seguir em frente com a vida;

Ao meu marido Alexandre Ricardo Gambiragi, por compreender meus momentos de ausência e pelo amor e compreensão dada no decorrer deste trabalho;

A Manuella Moreira Gambiragi, minha filha, por ter vindo no melhor momento da minha vida e a qual atribuo todo o meu sucesso.

RESUMO

i

Foram examinados 300 pintinhos de um dia de idade com a colheita de sangue venoso e swab cloacal provenientes de três empresas avícolas localizadas na Região Metropolitana de Fortaleza – CE com o objetivo de pesquisar a presença de *Salmonella* sp em amostras sanguíneas e swabs cloacais. Realizou-se, por empresa, quatro coletas de vinte e cinco amostras, que foram utilizadas para análise sorológica por SARP e análise microbiológica através do isolamento bacteriano. O SARP foi realizado com sangue total. Para a análise microbiológica as amostras foram obtidas de swabs cloacais. Das 300 amostras estudadas 100 foram positivas e 200 negativas no teste SARP e por empresa o número encontrado foi 45 amostras positivas e 55 negativas na empresa A; na empresa B, 34 positivas e 66 negativas; na empresa C, 21 amostras positivas e 79 negativas. Na análise microbiológica observou-se negatividade para as 300 amostras estudadas. O estudo mostrou que o teste de SARP não deve ser utilizado como única prova de triagem de aves portadoras de *Salmonella*, podendo ser complementado, de preferência, com o isolamento bacteriano e ainda mostrou que os pintos analisados da Região Metropolitana de Fortaleza-CE detêm boa qualidade microbiológica quanto à presença de *Salmonella*.

ABSTRACT

ii

Three hundred samples (blood and cloacal swabs) of 300 1-day-old chicks were analyzed with the objective of examining for the presence of *Salmonella sp.* Four collections of twenty-five samples were done in each company. Serology was performed using the rapid serum agglutination (RSA) and for bacterial isolation was employed the standard procedure for genus *Salmonella*, as described in the Programa Nacional de Sanidade Avícola. From the 300 analysed samples, 100 were positive and 200 were negative to the test of RSA in Plate and the found number of each company was 45 positive samples and 55 negative in the company A; in the company B, 34 positive and 66 negative; in the company C, 21 positive and 79 negative. In the microbiologic analysis were observed negative results to all the chicks analyzed samples. The study showed that the test of RSA in Plate should not be used like the only proof of selection to fowls that have *Salmonella*, so this test can be accompanied preferably by a bacterial isolation and showed too that the analyzed chicks in the Metropolitan Region of Fortaleza-CE are in good conditions for the lodging.

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
INTRODUÇÃO	11
REVISÃO DE LITERATURA	13
I- Histórico	13
II-Etiologia	13
III- Epidemiologia	15
IV- Patogenia	18
V- Sinais Clínicos	20
VI- Métodos de Diagnósticos	22
VII- Teste de soroaglutinação rápida	23
VIII- Isolamento bacteriano	24
IX- Controle	25
JUSTIFICATIVA	27
OBJETIVOS	28
I- Objetivo Geral	28
II- Objetivos Específicos	28
EXPERIMENTO REALIZADO	29
Artigo : Pesquisa de <i>Salmonella</i> sp em pintos de frango de corte pertencente a empresas avícolas da Região Metropolitana de Fortaleza-CE	30
CONCLUSÕES GERAIS	48
PERSPECTIVAS	49
REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	50

INTRODUÇÃO

As bactérias do gênero *Salmonella*, parasitas intestinais, pertencem a família *Enterobacteriaceae* e compreendem, aproximadamente, 2.500 sorotipos. As salmonelas podem infectar um grande número de animais de sangue quente e sangue frio, ocorrendo muito freqüentemente em aves, particularmente, perus e galinhas. Segundo BEZERRA (1995), as bactérias deste gênero podem causar nas aves três tipos de infecções, a pulorose, tifo aviário e o paratifo aviário. Os sorotipos causadores da pulorose e do tifo aviário são *Salmonella pullorum* e *Salmonella gallinarium*, respectivamente. Outros sorotipos de *Salmonella*, como a *Salmonella enteritidis* e *Salmonella typhimurium*, principais agentes do paratifo aviário, ocasionam, com freqüência, enterite nas aves e queda de produção e ainda problemas de saúde pública. Estas bactérias e outras do grupo paratifóide são mais difíceis de controlar em virtude de sua epidemiologia complexa, envolvendo excreção fecal, contaminação do ambiente e, principalmente, pela existência de reservatórios de diferentes espécies.

Após a introdução de *Salmonella* em uma granja avícola, o controle torna-se uma tarefa árdua e de resultados imprecisos. Ocorrerá disseminação entre as aves, para o meio ambiente e poderá aparecer na progênie, em se tratando de plantéis reprodutores. Esta situação pode comprometer o rendimento do plantel e compromete a qualidade do produto final, destinado ao consumo humano. Em associação às medidas gerais de controle de qualidade da limpeza, higienização, desinfecção e controle de qualidade da ração, a identificação microbiológica de lotes portadores constitui-se em instrumento imprescindível para o sucesso de programas preventivos. Em vários países foi criado um comitê de estudo devido aos problemas causados por *Salmonella enteritidis*. No Brasil foi criado o PNSA (Programa Nacional de Sanidade Avícola) que estabeleceu normas para inspeção de aves industriais em se tratando de *Salmonella*. Este programa prevê a avaliação microbiológica de todos os lotes de aves importadas e posteriormente de aves reprodutoras e aves de corte e postura (ZANCAN, 2000), devendo ser feita logo nos primeiros dias de vida.

Aves jovens são mais susceptíveis à infecção por *Salmonella*, portanto um conhecimento precoce de aves contaminadas pode ajudar no combate à infecção e evitar sua disseminação no plantel, sendo de extrema importância a avaliação das aves logo nos primeiros dias de vida, no sentido de detectar a transmissão vertical e o nível de contaminação do lote.

REVISÃO DE LITERATURA

1) Histórico

As primeiras bactérias do gênero *Salmonella* foram identificadas no final do século passado. A primeira *Salmonella* reconhecida como patógeno foi a *Salmonella typhi*, em 1880, por Eberth, encontrada no baço e linfonodos de seres humanos. O seu isolamento e descrição morfológica só foram feitos por Gaffky em 1884 (CORRÊA e CORRÊA, 1992). Posteriormente, nos Estados Unidos, um germe era o causador da enfermidade e foi denominado de *Bacillus choleraesuis*. Até 1904 acreditava-se que este microrganismo produzia a peste porcina. Mas, neste mesmo ano, Schweinitz e Dorset descobriram que a verdadeira causa da enfermidade era um vírus filtrável. Em consequência notou-se que o germe era um agente secundário que podia ser uma das causas da enterite infecciosa dos suínos. Outro membro do grupo foi isolado, por Gartner, em 1888, a partir de um suíno jovem, morto por gastroenterite, ao ingerir carne crua de bovino enfermo que foi denominado de *Bacillus enteritidis* (MERCHANT e PACKER, 1980).

O gênero *Salmonella* pertence à família *Enterobacteriaceae* e compreende microrganismos patogênicos para o homem e animais. Foi assim denominado por Lignieres (1900) em homenagem a Daniel E. Salmon, médico veterinário e microbiologista, que foi o primeiro chefe do *Bureau of Animal Industry* dos Estados Unidos, que caracterizou o agente do paratifo suíno, em 1884 (*Bacillus choleraesuis*). Foram incluídos no gênero, *Salmonella typhimurium* (Loeffler, 1892), *Salmonella paratyphi* (Schottimuller, 1899), sendo descritos, a seguir, vários outros sorotipos, classificados através da terminologia de White, 1929 (GUERREIRO 1984).

2) Etiologia

Atualmente, segundo o manual de Bergey todos os sorotipos de *Salmonella* pertencem a duas espécies, *Salmonella bongori*, contendo menos de 10 sorotipos que são extremamente raros e os mais de 2.500 sorotipos restantes fazem parte da espécie *Salmonella choleraesuis*, que é dividida fenotipicamente e geneticamente em seis subespécies. Todos os sorotipos da subespécie *choleraesuis* são nomeados enquanto que os sorotipos das outras subespécies não (exceto alguns na

subespécie *salamae* e *houtenae*). A recomendação para nomear a *Salmonella*, no diagnóstico laboratorial, é nomear o sorotipo pelo nome e os sorotipos que não são nomeados, pela fórmula antigênica (HOLT, 1994).

A divisão da *Salmonella* dá-se por tipos sorológicos e esta divisão toma por base a especificidade imunológica dos chamados antígenos somáticos (O), antígeno de envoltório (Vi) e antígenos flagelares (H) (TRABULSI, 1991).

Os antígenos somáticos, O e Vi, são de natureza polissacarídea, resistente ao calor (2h a 100 °C), ao álcool e ao fenol. Os antígenos O são os mais importantes por ocorrerem em qualquer *Salmonella* em fase S (lisa) e permitem separá-las em grupos sorológicos. O antígeno Vi é encontrado apenas nos sorovares *Salmonella typhi* e *Salmonella paratyphi* – C. Os antígenos flagelares, ditos H, são de natureza protéica, termolábeis a 100 °C e são destruídos com álcool ou fenol. Com relação aos antígenos H, as salmonelas podem ser monofásicas (todos os microrganismos da cultura reagirão apenas com o anti-soro flagelar específico) ou difásicas (BIER, 1982).

As bactérias do gênero *Salmonella* são bacilos Gram-negativos, não produzem esporos são anaeróbios facultativos, pertencem à família *Enterobacteriaceae* e são altamente adaptados aos hospedeiros. Os bacilos normalmente são únicos, porém podem ser encontrados dois ou mais bacilos fundidos quase todos com flagelos e alguns imóveis (SHIVAPRASAD, 1997).

A melhor temperatura para o crescimento da *Salmonella* é de 37 °C, suas colônias podem apresentar-se pequenas, discretas, azul acinzentada ou branco-acinzentada. As maiorias das colônias são pequenas (1mm ou menos), mas colônias isoladas podem apresentar um diâmetro de 3-4 mm ou mais (SHIVAPRASAD, 1997).

O gênero *Salmonella* é complexo e produz uma variedade de fatores de virulência, dos quais podemos destacar: a capacidade de adesão aos receptores celulares das células dos hospedeiros e desta forma sobrevive intracelularmente (KOTTOM e col., 1995); poder de penetrar nas células intestinais, colonizar e viver in

situ podendo ir para o tecido subepitelial através da destruição de microvilosidades (PORTER e CURTISS, 1997).

3) Epidemiologia

As bactérias do gênero *Salmonella* têm como principal habitat o trato intestinal do homem e animais, com grande frequência em aves, principalmente galinhas e perus. Qualquer alimento de origem animal pode ser veículo de transmissão da bactéria para o homem (ACHA e SZYFRES, 1986). Patógenos gastrointestinais têm sido a principal causa de infecções humanas provocadas por alimentos contaminados em muitos países, sendo a carne de aves considerada a principal reserva de *Salmonella* (LINE e col., 1998).

A infecção por *Salmonella* em animais, frequentemente resulta em portadores. De acordo com KAMPELMACHER (1987), entre os fatores que determinam o estado de portador, estão as rações contaminadas e a existência de ciclos de contaminação nos quais a água, o solo, a poeira e o ar, bem como insetos, roedores, pássaros e o homem desempenham papéis importantes.

Em aves, a primeira descrição documentada de salmonelose foi feita no ano de 1885, em pombos. Somente alguns anos mais tarde, entre 1920 e 1930, foram descritos os primeiros surtos em galinhas e perus (SILVA, 1981).

As galinhas são hospedeiros naturais da *Salmonella pullorum* e *Salmonella gallinarum*, contudo têm ocorrido surtos em perus, capotes, codornas, faisões e papagaios. A susceptibilidade de patos, gansos e pombos a *Salmonella gallinarum* são variáveis, porém tais aves podem apresentar resistência a esse patógeno (SHIVAPRASAD, 1997). As espécies de *Salmonella* pertencentes ao grupo paratifóide não apresentam hospedeiros específicos e podem provocar em seres humanos as toxinfecções alimentares (BEZERRA, 1995).

As aves são mais susceptíveis nos primeiros dias de vida, podendo contaminar-se ao longo da sua fase de crescimento através de várias fontes, destacando-se a ração e seus componentes de origem animal (carne, osso, peixe,

vísceras, penas, sangue) e o incubatório. Na granja, a bactéria pode permanecer e propagar-se através da presença de pássaros, roedores, animais domésticos e silvestres, cama das aves e o homem, predispondo as aves ao paratifo e a transmissão para ovos, no caso das poedeiras comerciais, ou ao carregamento de salmonelas para o abatedouro, no caso de frango de corte, comprometendo a qualidade do produto final (BERCHIERI JR., 1991; SILVA, 1991; BERCHIERI JR. e BARROW, 1995).

Nas aves jovens a mortalidade ocorre entre a segunda e terceira semana de vida. Em alguns casos, a evidência da infecção como a pulorose não é observada do quinto ao décimo dia de vida. Em aves adultas, praticamente não se observa sinais clínicos aparentes, porém quando aparecem pode-se observar diarréia, anorexia e depressão, mas não tão evidentes como acontece com aves jovens. No entanto, há uma queda na produção de ovos e na fertilidade, de acordo com a intensidade da infecção (GAST e HOLT, 1998).

Segundo PORTER e CURTISS (1997), galinhas, perus e outras aves são fontes de mais de 40 % de salmoneloses. Muitos sorotipos são capazes de causar infecção letal em muitas aves jovens e infecção não letal em aves adultas. Alimentos, tais como carnes e ovos quando contaminados são considerados principais reservas de *Salmonella*, portanto sendo responsáveis por um grande número de infecções em humanos, sendo este processo iniciado através da invasão da *Salmonella* dentro do epitélio intestinal.

A *Salmonella* pode ser transmitida, verticalmente, para progênie de lotes de matrizes infectadas e horizontalmente entre lotes (GAST, 1997). A transmissão horizontal pode ocorrer através do canibalismo de aves infectadas, de lotes não contaminados com lotes contaminados, pela presença de aves silvestres, bem como o hábito de visitaçao de pessoas em granjas, principalmente aquelas vindo de outras granjas onde tenha ocorrido problemas (PALMU e CAMELIN, 1997).

A transmissão vertical acarretar grandes perdas de produtividade, já a transmissão horizontal pode levar ao surgimento de portadores assintomáticos,

promovendo a persistência e propagação de bactérias no meio ambiente, além de passar a ter implicações na saúde pública (MACHADO, 2000).

A epidemiologia das infecções por *Salmonella*, em aves, é complexa (HINTON, 1988) e nem sempre é possível determinar como um lote foi infectado ou como ocorreu a disseminação bacteriana no plantel. Para BERCHIERI JR e col., (1993), a ração é um dos elos mais importantes no ciclo da salmonelose aviária. A presença de *Salmonella* na matéria-prima da ração poderá induzir a uma infecção após ingestão e esta infecção pode tornar o plantel portador.

A transmissão vertical da *Salmonella* em lotes de aves reprodutoras pode resultar na produção de ovos contaminados pela bactéria no seu conteúdo, na superfície do ovo e para a progênie. De acordo com GORDON e TURCKER (1965), constatou-se que as fêmeas, experimentalmente infectadas, transmitiam *Salmonella menston* para a sua progênie. O mesmo sorotipo foi responsável pela mortalidade de pintos e perus naturalmente infectados pelas matrizes, sendo este sorotipo frequentemente isolado dos lotes de matrizes.

A salmonelose causada pelo sorotipo *Salmonella pullorum*, é uma doença aguda e sistêmica que provoca alta mortalidade em aves jovens. Perdas econômicas decorridas da transmissão vertical e horizontal têm causado grandes prejuízos. Em muitos países em desenvolvimento, infecções por *Salmonella pullorum* são comuns e a pulorose uma das principais enfermidades na produção comercial de frangos. Em países desenvolvidos a pulorose tem-se mantido em incidência muito baixa por vários anos. Contudo, nos últimos anos, a doença tem reaparecido em granjas não comerciais, os quais podem servir como potencial reservatório da doença para lotes comerciais livres. Uma particularidade desses novos aparecimentos da doença nos países desenvolvidos foi o isolamento da *Salmonella pullorum* de tecidos de aves que foram negativos ao teste sorológico, sugerindo que essas aves possam ter sido infectadas após o teste, ou o exame sorológico falhou em detectar a existência de infecção dentro do lote (GAST, 1997).

JOHNSON e col. (1992) relataram a ocorrência de *Salmonella pullorum* durante o ano de 1990, em uma empresa integrada nos EUA. Este surto resultou na

disseminação de *Salmonella pullorum* para 150 lotes de frangos de corte. Foram infectados 22 lotes de aves reprodutoras. A investigação epidemiológica revelou que o foco da infecção foi um lote de avós da linha macho. A transmissão foi aparentemente vertical e a transmissão horizontal ocorreu por contato nas incubadoras e entre os pintos pelo contato com cama contaminada.

A contaminação por *Salmonella enteritidis* é um dos maiores problemas para avicultura moderna. Tanto os ovos como a carcaça, podem ser infectados e conseqüentemente infectar os consumidores (DUCHET-SUCHAUX e col, 1995). Em países desenvolvidos observou-se que a febre tifóide tem provocado em muitas aves, morbidade e mortalidade alta. Em Hong Kong a incidência observada foi de 2,7 casos por 100.000 habitantes (LING e col., 2000).

A contaminação dos produtos avícolas destinados ao consumo humano pode ocorrer por diversas formas, dentre elas: por infecções sistêmicas das aves, durante o abate e o processamento destes produtos, contato com superfícies contaminadas, mão dos manipuladores e contaminação cruzada durante o preparo dos alimentos (NAGARAJA e col. 1991; NASCIMENTO 1996; SILVA, 1996).

4) Patogenia

O órgão de predileção da *Salmonella* é o intestino, onde se instala e se reproduzem, conforme as espécies afetadas e o tipo de agente. Porém, se o agente ingressar em capilares sanguíneos, poderá ocorrer à forma septicêmica, quando se observa lesões hepáticas com aumento do volume do órgão e formação dos nódulos paratíficos, embora esses achados não sejam patognomônicos. Caso o agente chegue a ultrapassar o fígado poderá também ser observado nos pulmões provocando uma pneumonia lobular, geralmente grave (SATO e col., 1997).

As lesões macroscópicas que podem ser observadas durante a necrópsia são: pele flácida com sinais de desidratação, saco da gema coagulado ou não absorvido, congestão do fígado e baço e presença de pequenos pontos branco-

acinzentados de áreas de necrose, perihepatite, rins congestos, pericardite com aderências, peritonite acompanhada ocasionalmente por focos necróticos e exsudato caseoso nos cecos (SILVA, 1996).

As bactérias do gênero *Salmonella* são invasivas e podem localizar-se no ovário das aves (FADDOUL e FELLOOWS, 1966; SNOEYENBOS e col., 1969; TURNBULL e SNOEYENBOS, 1974; TURNBULL e RICHMOND, 1978). Todavia, há várias outras possíveis maneiras pelas quais a *Salmonella* pode ser transmitida aos ovos. Infecção do oviduto pode resultar na formação de clara infectada durante a formação do ovo. Após a casca ter sido formada, *Salmonella* presente nas fezes pode entrar no ovo antes do estabelecimento da barreira cuticular protéica da sua superfície, a qual é considerada a primeira barreira de prevenção contra a invasão bacteriana (WILLIAMS & DILLARD, 1968). Além disso, a contaminação externa da casca de um ovo íntegro pode resultar no estabelecimento da infecção no pinto durante a incubação. Finalmente, a bactéria pode entrar em ovos trincados em qualquer estágio da incubação antes deles eclodirem (BOARD, 1968).

Durante a ovoposição, muitas vezes ovos são contaminados por *Salmonella* do grupo paratífóide, pela exposição às fezes, especialmente durante a passagem destes pela cloaca de aves portadoras. A penetração da bactéria dentro ou diretamente na casca do ovo e membrana da casca pode resultar em transmissão direta da infecção para o embrião em desenvolvimento ou pode conduzir a exposição do pinto à infecção por *Salmonella* quando a estrutura do ovo é rompida durante a incubação (GAST, 1997).

O trato digestivo das aves, principalmente das adultas apresenta uma série de barreiras à instalação de salmonelas, entre elas pode-se citar: acidez do papo e proventrículo, enzimas digestivas do pâncreas e bilis, exclusão competitiva promovida principalmente por bactérias anaeróbias constituintes do trato digestivo normal das aves e as imunoglobulinas. Contudo, apesar de todas essas barreiras, as bactérias conseguem instalar-se no trato digestivo das aves aderindo-se firmemente a receptores da mucosa intestinal (CRAVEN e WILLIAMS, 1996) e mantendo-se em equilíbrio com a microbiota normal, preferencialmente nos cecos e reto, sendo excretadas via fezes por um longo período de tempo (NAVARRO, 1995).

GAST e BEARD (1990), infectaram experimentalmente galinhas poedeiras em idades variadas com cepa de *Salmonella enteritidis*, mediante inoculação oral e por contato, observando que a produção de ovos diminuiu em todas as idades e a excreção intestinal persistiu em algumas aves. As galinhas infectadas produziram uma grande quantidade de ovos contaminados por *Salmonella enteritidis*, durante um certo período de tempo que se aproximou de uma semana após a inoculação em galinhas mais velhas e durante duas semanas em aves mais jovens. A *Salmonella enteritidis* foi reisolada, em freqüência similar, da membrana folicular e do albúmen desses ovos, porém não do conteúdo da gema. Observou-se também que uma produção de ovos com casca contaminada foi similar nas aves infectadas com inoculação oral e por contato.

5) Sinais clínicos

Ovos infectados por *Salmonella* podem favorecer o aparecimento de pintinhos moribundos e mortos já na incubadora. As aves podem apresentar sonolência, anorexia e retardo no crescimento. Em alguns casos, sinais evidentes da infecção não são observados de cinco a dez dias após o nascimento dos pintos, mas a doença ganha impulso nos próximos sete a dez dias. O pico de mortalidade geralmente ocorre durante a segunda ou terceira semana de vida, onde as aves, neste momento, ficam prostradas e tendem a se amontoar para se aquecerem, podendo apresentar também asas caídas e corpo com aparência distorcida. Aves com dispnéia podem ser encontradas como resultado de uma extensiva patologia nos pulmões. Os sobreviventes podem apresentar retardo no crescimento e falhas no empenamento. Em alguns casos uma incidência relativamente alta de infecções nas articulações com laminite articular que tem sido descrito em aves jovens (JOHNSON e col., 1992).

As infecções paratífóides geralmente causam problemas apenas em aves jovens. Os sintomas são confundidos com os de outras doenças e incluem sonolência, as aves permanecem paradas com a cabeça baixa e olhos fechados, asas caídas e penas arrepiadas, com tendência a se amontoarem próximo à fonte de calor, perda do apetite e aumento do consumo da água, diarréia aquosa profusa

e emplastamento da cloaca (BERCHIERI JR, 1991; SILVA, 1991; BERCHIERI JR e BARROW, 1995; NAVARRO, 1995; NASCIMENTO, 1996). Os sorotipos do grupo paratífico conseguem permanecer no trato entérico desses animais, transformando-os em possíveis fontes de toxinfecção alimentar para seres humanos, via produto de origem animal (BERCHIERI JR., 1991).

A *Salmonella enteritidis* pode infectar lotes de aves e invadir lotes vizinhos sem que os lotes apresentem qualquer sinal da doença, LOZANO (1996). Esta infecção inaparente não se limita ao intestino, estendendo-se também aos órgãos internos, incluindo o sistema reprodutivo, com conseqüente contaminação da progênie, futuros frangos de corte ou poedeiras de ovos comerciais para consumo humano.

Segundo ROSE e col (2000), até agora mais de 99% dos sorotipos de *Salmonella* podem causar doenças subclínicas em aves, mas sua maior importância é com relação à saúde pública. Em humanos, as infecções podem ser decorrentes de carnes e ovos contaminados ou de seus derivados. Algumas práticas de abate (área suja não separada da área limpa, cuidados com o pré-xile e xile), hoje empregadas podem favorecer a contaminação de um grupo sadio por outro contaminado. Para diminuir as infecções nas carcaças, faz-se necessário controlar a infecção nos galpões e estabelecer um controle de prevenção das aves e produtos no ambiente contra a colonização pela bactéria. Tal controle deve ser bastante eficiente para se evitar a persistência da contaminação após limpeza e desinfecção dos galpões.

Em seres humanos as manifestações clínicas da infecção por *Salmonella* variam desde leves sinais intestinais à septicemia, com óbitos em geral restritos a recém-nascidos, idosos e pessoas imunocomprometidas. A diarreia é o principal sintoma, e sua intensidade varia de paciente para paciente. Na maioria dos casos a diarreia ocorre a cada 10-15 minutos e por várias horas, passando a ocorrer de duas a três horas por um dia ou mais e, depois, de duas a três vezes ao dia por vários dias. Dores abdominais, cólicas, febre, náuseas, vômito e dor de cabeça também podem estar presentes (PELZER, 1989; SILVA, 1991).

6) Métodos de diagnóstico

O diagnóstico da salmonelose nas aves pode servir como um meio de diminuir a infecção em humanos. Um diagnóstico definitivo para pulorose e tifo aviário, assim como para outras salmoneloses, está baseado no isolamento e identificação da *Salmonella*. Contudo, o diagnóstico pode ser complementado pelo histórico, sinais clínicos, lesões e mortalidade (MACHADO, 2000).

Para diagnóstico por isolamento bacteriano de aves com sinais clínicos da doença ou suspeitas sorológicas, é comum a utilização de “swabs” de órgãos ou de fragmentos colhidos com material estéril. Na monitoria de lotes, são mais usadas as coletas através de swabs de cloaca, swabs de arrasto, cama, fezes frescas, conteúdo de comedouros e água, e no caso de reprodutoras e poedeiras comerciais, ovos e embriões também podem ser cultivados (BERCHIERI Jr. e BARROW, 1995).

Métodos sorológicos podem ser utilizados como forma de diagnóstico, contudo, os resultados não são estritamente confiáveis especialmente quando se utiliza a SAR, devido à possibilidade de falsos negativos em virtude dos anticorpos aparecerem somente a partir do terceiro ao décimo dia ou mais da infecção; e também a possibilidade de falso positivo pela reação cruzada com outras enterobactérias (BARROW, 1993). Baseando-se nisto é que, segundo SHIVAPRASAD (1997), faz-se necessário um exame complementar à sorologia rápida podendo este ser o ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) ou isolamento bacteriano, onde para a realização do isolamento pode-se analisar muitos tecidos, porém o fígado e o ceco são os prediletos, em aves adultas os órgãos reprodutores como folículos ovarianos são os mais analisados.

7) Teste de soroaglutinação rápida (SAR)

A realização de provas de soroaglutinação rápida (SAR) com antígenos polivalentes O (somático) utilizado para tirar aves reagentes para *Salmonella pullorum* e *Salmonella gallinarum*, pode ser útil para reconhecer aves infectadas por diferentes espécies de salmonelas do grupo paratífóife, particularmente *Salmonella enteritidis* (ITO, 1995).

A descrição original do teste, usando soro, foi realizada por RUNNELS em 1927. Posteriormente, BUNYEA e col. (1929) fizeram uma adaptação da prova usando uma gota de sangue total e uma gota de suspensão salina densa de *Salmonella pullorum* viva como antígeno.

Em 1931, SCHAFFER , publicou um trabalho alertando sobre o risco do uso de antígeno vivo na realização do teste de SAR em granjas e no mesmo trabalho descrevem um novo antígeno produzido com *Salmonella pullorum* inativada com formol e corado com cristal violeta.

O uso do teste de aglutinação rápida tem sido novamente enfatizado devido ao reaparecimento de *Salmonella pullorum* em operações integradas de frangos de corte e devido à possibilidade de detecção de lotes infectados por *Salmonella enteritidis* (WALTMAN e HORNE, 1993). O teste é, entretanto sujeito a alterações nos resultados. Podem ser encontrados resultados falso-positivos devidos o teste apresentar uma especificidade inadequada e falso-negativos em consequência de sua baixa sensibilidade (GAST e BEARD, 1990).

A soroaglutinação é um teste de triagem que detecta imunoglobulinas M e G, sendo IgM a principal. A concentração de proteína/g.cm³ detectado é 0,05 Este teste é qualitativo, portanto determina a positividade e negatividade de animais, também considerado teste de ligação secundária, o qual processa-se de dois estágios. O primeiro estágio é a interação entre antígeno e anticorpo, uma reação

que não é intensamente afetada pela temperatura, mas pode ser revertida por força iônica alta ou um pH baixo. O segundo estágio é determinado pelo estado físico do antígeno. Portanto, se os anticorpos combina-se com antígenos solúveis em solução sob condições apropriadas, os complexos precipitam-se. Se os antígenos são particulados – por exemplo, bactérias ou eritrócitos, então, eles aglutinam-se. (TIZARD, 1998).

Apesar da larga utilização do teste de SAR na triagem das aves, o achado de aves reatoras não pode ser interpretado como infecção, sendo sempre recomendada a cultura bacteriológica, para identificação do organismo infectante (SNOEYENBOS, 1981).

8) Isolamento bacteriano para *Salmonella* sp.

Na pesquisa e no diagnóstico de salmonelas paratífóides, podem ser utilizadas muitas fontes de material, dependendo da sintomatologia do animal, do sorogrupo pesquisado, e dos objetivos do trabalho.

O êxito no isolamento de *Salmonella* vai depender da rapidez com que todo o material colhido seja manipulado no laboratório, evitando as alterações provocadas pelo crescimento da flora de associação. As formas de minimizar tal efeito são a conservação do material a baixa temperatura ou emprego de meios de transporte. Muitos autores utilizaram e modificaram as soluções salinas glicerinadas, aumentando o número de seus isolamentos (EWING, 1986).

No diagnóstico bacteriológico das salmonelas aviárias adotam-se os mesmos critérios ou metodologias empregadas para os espécimes provenientes de outras fontes de infecção, ou de alimentos, ou do meio ambiente. O esquema bacteriológico é baseado na utilização de meios de enriquecimento e seletivos-indicadores, principalmente quando se trata de espécimes contendo uma microbiota complexa, como é o caso de fezes ou vísceras em decomposição (HOFER, 1981).

9) Controle

O controle das salmonelas é bastante complicado, principalmente nas integrações avícolas, onde podemos citar fontes potenciais de contaminação como: ração, roedores, insetos, transporte e o ambiente de processamento de aves; sendo que todas as fontes de salmonelas são potencialmente importantes na transmissão (BAILEY, 2000).

A infecção paratífica que é transmitida nas aves industriais pela via vertical constitui-se em um sério problema em avicultura e saúde pública necessitando de um programa urgente de controle. Programa este que se inicia pela detecção, por procedimento bacteriológico ou sorológico de aves e ovos importados e aplicação da microbiota normal em pintos recém eclodidos (exclusão competitiva) bem como a eliminação de aves infectadas (BARROW e LOVELL, 1991).

A persistência da *Salmonella* em galpões, após limpeza e desinfecção é um dos maiores riscos para os lotes de aves que estão sendo alojadas. Os fatores de risco para a persistência da *Salmonella* em galpões após limpeza e desinfecção, não são bem conhecidos, acredita-se que esteja relacionada à qualidade da água e ao tipo de produtos utilizados. Tem-se verificado que o formaldeído, utilizado na parte final da limpeza, diminui a prevalência e persistência da *Salmonella* (ROSE e col. 2000).

Este fato reveste de importância a necessidade de sempre melhorar a qualidade sanitária que se aplica em todas as etapas de criação das aves, podendo-se atribuir como causas de aparecimento de doenças nos plantéis as práticas de manejo desenvolvido de forma errônea, como o uso inadequado de cama de aviário que pode contribuir para a perpetuação da infecção intestinal das aves como foi demonstrado por FANELLI e col. (1970).

O sucesso no controle da *Salmonella* na indústria avícola está diretamente relacionado à elaboração e execução de um programa de controle integral e aplicável, dirigido e realizado em todos os níveis da cadeia de produção, tais como: fábrica de ração, reprodutoras, incubatórios, granjas de produção comercial, abatedouros e manejo do produto acabado incluindo a cozinha da dona de casa. (HINTON, 1992; LOZANO, 1996).

JUSTIFICATIVA

A avicultura atualmente é um dos setores da produção animal que mais se expande, devido a modernas técnicas de melhoramento genético e nutricional das aves. Hoje o frango de corte está indo cada vez mais cedo para o abate, o que requer um controle mais intenso das enfermidades, pois quanto mais tecnificado o setor fica, mais difícil torna-se o controle de infecções por agentes microbianos patogênicos e oportunistas. Contudo, a avaliação de aves nos primeiros dias de vida é essencial para que uma infecção provocada por *Salmonella* seja detectada precocemente e assim a disseminação da bactéria nas criações avícolas seja evitada.

Desta forma, o presente trabalho justifica-se pela necessidade de se verificar a presença de *Salmonella* em pintinhos de frango de corte com um dia de idade, por serem mais susceptíveis à infecção neste período, possibilitando assim o conhecimento da contaminação das aves alojadas nas granjas da Região Metropolitana de Fortaleza-CE, para que programas sanitários mais eficientes sejam estabelecidos e conseqüentemente o combate das salmoneloses nas diversas criações avícolas seja realizado com sucesso.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Investigar sorologicamente e microbiologicamente a presença de *Salmonella* sp. em amostras (sangue venoso e swabs cloacais) de aves de frango de corte com um dia de idade, alojados em granjas da Região Metropolitana de Fortaleza-CE e inferir com os resultados, sobre a qualidade do produto avícola disponibilizado no mercado.

Objetivos Específicos

- Determinar a ocorrência de *Salmonella* sp. em pintos de frango de corte com um dia de idade com o teste de SAR.
- Identificar a presença de *Salmonella* sp. através do isolamento bacteriano em pintos de um dia de idade, provenientes de empresas produtoras de frango de corte.
- Relacionar a avaliação sorológica por SAR com o isolamento bacteriano

EXPERIMENTO REALIZADO

Artigo:***Salmonella* sp. em frangos de corte de um dia de idade na Região Metropolitana de Fortaleza-CE**

(*Salmonella* sp. in one day old broiler chickens in the Metropolitan Region of Fortaleza-CE, Brazil)

Keywords: *Salmonella*, broiler chickens, Fortaleza-Brazil

Ana Paula Oliveira Moreira-Gambiragi¹, William Cardoso Maciel², Rosa Patrícia Ramos Salles¹

Autor para correspondência:

Ana Paula Gambiragi
Rua Tenente Tito Barros,341,BI.1 Apt.102, Cajazeiras
CEP- 60864-400, Fortaleza-CE
Fone: 85 279-5832
e-mail: anagambiragi@zipmail.com.br

¹ Aluna do Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias – FAVET – UECE, bolsista CAPES

² Prof. Doutor da Faculdade de Veterinária/ Universidade Estadual do Ceará, Orientador

RESUMO

As salmoneloses são doenças provocadas por bactérias do gênero *Salmonella* e que causam até hoje grandes perdas econômicas na avicultura industrial, pode acometer muitas espécies animais, sendo mais freqüentemente investigada e encontrada em perus e galinhas. Por serem as aves jovens mais susceptíveis à infecção, realizou-se a pesquisa de *Salmonella* sp. em pintos de um dia de idade provenientes de três empresas avícolas produtoras de frangos de corte localizadas na Região Metropolitana de Fortaleza-CE. Foram analisadas 300 amostras (sangue e swabs cloacais) através do teste de soroaglutinação rápida em placa (SAR) e isolamento bacteriano, onde se encontrou 100 amostras positivas e 200 amostras negativas no teste de SAR, porém quando se realizou o isolamento bacteriano obteve-se uma negatividade para 100 % amostras analisadas. O estudo mostrou que o teste de SAR não deve ser utilizado como única prova de triagem para pesquisar aves portadoras de *Salmonella*, devendo ser complementado, de preferência, com o isolamento bacteriano, sendo esta a recomendação oficial do PNSA e OIE. Foi observado também que os pintos analisados da Região Metropolitana de Fortaleza-CE detém de boa qualidade microbiológica quanto à presença de *Salmonella*.

ABSTRACT

The Salmonellosis, disease provoked by the bacterium *Salmonella*, which has caused, until today, great economical losses in the industrial aviculture, it can attack a wide range of animals, being more usual in turkeys and chickens. Young fowls are more susceptible to infection, so a research of *Salmonella sp* was accomplished. in 1-day-old chicks coming from three poultry companies producing of broilers located in the Metropolitan Region of Fortaleza. Four collections of twenty-five samples were done in each company. Serology was performed using the rapid serum agglutination (RSA) and for bacterial isolation, the standard procedure for genus *Salmonella* was used, where 100 positive samples e 200 negative samples were found in the test of RSA, however, when the bacterial isolation was accomplished, negative results were obtained to the 300 analyzed samples. The study showed that the test of RSA should not be used as the only proof of selection to fowls that have *Salmonella*, so this test can be accompanied preferably by a bacterial isolation and also showed that the analyzed chicks in Metropolitan Region of Fortaleza-CE are in good conditions for the lodging.

INTRODUÇÃO

As salmonelas são bactérias pertencentes à família *Enterobacteriaceae* e compreende aproximadamente 2.500 sorotipos capazes de provocar enfermidades em seres humanos e animais sendo mais freqüentemente encontrado em aves e perus (BEZERRA,1995).

Segundo ZANCAN (2000), quando se detecta *Salmonella* numa granja avícola, o controle da enfermidade é muito difícil e de resultados imprecisos, podendo ocorrer disseminação entre as aves, para o meio ambiente e poderá aparecer na progênie em se tratando de plantéis de reprodutoras, sendo esta situação comprometedora para o rendimento do plantel e qualidade do produto final; portanto, medidas gerais de controle devem ser realizadas juntamente com uma identificação microbiológica de lotes portadores da infecção para que haja sucesso nos programas preventivos desta enfermidade.

Baseando-se nisto, a avaliação de aves no primeiro dia de vida é muito importante no sentido de se detectar lotes infectados, para que o combate a esta enfermidade seja imediato, evitando assim prejuízos econômicos nos quais a *Salmonella* está envolvida. Assim, este trabalho teve como objetivo investigar sorologicamente e microbiologicamente a presença de *Salmonella* sp. em aves de frangos de corte com um dia de idade, alojadas em granjas da Região Metropolitana de Fortaleza-CE.

MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Origem das aves estudadas

Foram estudadas amostras (sangue venoso e swab cloacal) provenientes de 300 aves de frango de corte com um dia de idade de unidades de criação industrial de três empresas avícolas localizadas na Região Metropolitana de Fortaleza – CE.

Cada empresa avícola visitada tinha o seu próprio incubatório, de onde os pintinhos eram provenientes. Estes três incubatórios utilizavam sistemas de desinfecção semelhantes.

As três empresas avícolas utilizavam sistema de criação para as reprodutoras com equipamentos similares, todas equipadas com bebedouros pendulares e com mesmo sistema de cortinas.

No tratamento de pintinhos todos os equipamentos infantis eram iguais: comedouros tipo tubular infantil, bebedouros pendulares e campânulas a gás.

Foram realizadas quatro visitas nas três empresas avícolas para coleta das amostras.

4.2 Colheita das amostras

Realizou-se por empresa quatro visitas, em cada visita, vinte e cinco amostras de sangue venoso e swabs cloacais foram coletadas para realização do teste de soroglutinação rápida em placa (SAR) e isolamento bacteriano, respectivamente, perfazendo um total de 100 amostras por empresa.

Os pintos de um dia de idade foram levados ao laboratório BIOLAB S/C Ltda, onde se realizou swab cloacal para análise microbiológica, em seguida foram levados ao LABEO onde sangue venoso foi coletado para realização da análise sorológica.

4.3 Teste de SAR

O teste SAR foi realizado utilizando-se sangue total e estes foram testados com antígeno comercial para *Salmonella*, utilizando-se duas gotas de sangue para uma gota de antígeno, onde numa placa de Hudleson limpa foram misturados delicadamente até a completa homogeneização, observando-se assim a formação ou não de aglutinação por um período não superior a dois minutos, comparando a reação com controles positivo e negativo.

4.4 Isolamento e Identificação de *Salmonella*

4.4.1 Procedimento microbiológico

A metodologia de isolamento seguiu as recomendações do manual da WORLD HEALTH ORGANIZATION para os países europeus (WRAY e DAVIES, 1994).

4.4.1.1 Enriquecimento Seletivo

No laboratório realizou-se os swabs das cloacas das aves em seguida, os mesmos foram colocados em tubos de ensaio contendo 10 mL do meio de cultura caldo selenito-cistina. O cultivo foi adicionado de uma solução de novobiocina a 0,4 %, inibindo assim o crescimento de microrganismos competidores. A seguir os tubos foram incubados na estufa a 37 °C por 24 h.

4.4.1.2 Plaqueamento

Para o plaqueamento seletivo utilizou-se os meios ágar verde brilhante e o ágar MacConkey. Com o auxílio de uma alça de sementeira as amostras dos meios de enriquecimento foram semeadas em duas placas, uma contendo o ágar Verde Brilhante e outra contendo o ágar MacConkey, a seguir as placas foram incubadas a 37 °C por 24 horas. Decorrido este período realizou-se a leitura das placas, para se observar o crescimento de colônias sugestivas de pertencerem ao gênero *Salmonella* e estas, quando positivas, foram submetidas à identificação bioquímica.

4.4.1.3 Identificação Bioquímica

Todas as placas que apresentaram crescimento de colônias de bactérias sugestivas de *Salmonella* sp. foram submetidas à identificação bioquímica onde o número médio de três a cinco colônias foram inoculadas em ágar TSI (Triple Sugar Iron) inclinado, e depois incubados a 37°C por 24 horas. Após este período, realizou-se a leitura dos tubos de ensaio,

para se observar crescimento de colônias com características bioquímicas do gênero *Salmonella* e quando positivas foram submetidas à identificação sorológica.

4.4.1.4 Identificação Sorológica

As colônias com comportamento bioquímico do gênero *Salmonella* foram submetidas à prova de detecção de antígenos somáticos (O) e flagelares (H), mediante o uso de soros polivalentes anti-O e anti-H (Probac). A prova de detecção destes antígenos foi realizada mediante colheita de colônia (24 h de cultivo), com auxílio de uma alça de platina e ressuspensão em água destilada estéril, depositada sobre uma lâmina de vidro e adição de igual volume do soro. Após homogeneização, a prova foi considerada positiva quando se evidenciou a presença de grumos.

RESULTADOS

Nas tabelas 1, 2 e 3 estão dispostos os achados referentes ao teste de SAR nas empresas A, B e C, respectivamente. Das 300 amostras analisadas obteve-se 100 amostras positivas e 200 negativas. Foram estudadas um número de 100 amostras por empresa, sendo que na empresa A encontrou-se 45 amostras positivas e 55 negativas; empresa B observou-se 34 amostras positivas e 66 negativas e na empresa C obteve-se 21 amostras positivas e 79 amostras negativas, mostrados na fig.1.

As tabelas 4, 5 e 6 mostram os resultados do isolamento de *Salmonella* sp. nas empresas A, B e C, respectivamente. Foi obtido o resultado negativo nas 100 amostras (0 %) analisadas na empresa A (Tab.4) ; nas 100 amostras (0 %) da empresa B (Tab. 5) e nas 100 amostras (0 %) amostras da empresa C (Tab 6).

Ao serem analisadas através do teste de SAR e isolamento bacteriano 300 aves provenientes de três empresas produtoras de frango de corte com um dia de idade, não foram isoladas bactérias do gênero *Salmonella* em nenhuma das amostras. Quanto à metodologia

utilizada para tal isolamento todas seguiram a metodologia adotada por WRAY e DAVIES (1994), portanto não tendo nenhuma variação para que influenciasse em tal resultado.

DISCUSSÃO

A presença de *Salmonella* tem sido também uma severa barreira sanitária restringindo o comércio de aves e seus produtos em todo o mundo, causando graves prejuízos econômicos (BERCHIERI Jr. e BARROW, 1995; NASCIMENTO, 1996).

De acordo com ZANCAN (2000), nos primeiros dias de vida, as aves são mais susceptíveis à infecção por *Salmonella* sp. Este seria o período em que a disseminação da bactéria deveria ser minimizada o máximo possível. A partir daí, a facilidade de disseminação entre as aves através da cama, ração, água, vetores mecânicos e biológicos, inviabiliza o sucesso pleno de qualquer programa de controle. Numerosas estratégias podem ser adotadas, e várias delas deverão ser utilizadas nos diferentes pontos da cadeia produtiva avícola desde que se pretenda obter resultados consistentes no controle de *Salmonella* nestas aves.

Segundo Hinton (1992), Navarro (1995), Nascimento (1996), citados por PEREIRA (1996) além das recomendações normais de biossegurança (confinamento total, proteção ambiental, lavagem e desinfecção e vazios sanitários) outras medidas são utilizadas para o controle de salmonelose nas empresas avícolas, como aplicação de flora bacteriana normal de aves adultas em pintinhos (exclusão competitiva); peletização da ração; utilização de aditivos na ração (ácidos orgânicos de cadeia curta, antibióticos e probióticos); vacinação; monitoria das aves através de métodos de sorologia e isolamento microbiológico a partir das aves e do ambiente. Um bom monitoramento dos lotes consiste em se fazer exames sorológicos periódicos podendo ser complementado com isolamento bacteriano. O isolamento deve ser feito através da pesquisa em cama, fezes frescas, swab de cloaca, swab de arrasto, água, ração (BERCHIERI Jr. e BARROW, 1995).

Nas tabelas 1, 2 e 3 observa-se os resultados encontrados no teste de SAR, sendo observado um total de 100 amostras positivas e 200 negativas, que poderia ter suporte no relato de SNOEYENBOS (1981), onde diz que o teste de SAR teria eficiência para detecção de aves reagentes não só para *Salmonella pullorum* e *Salmonella gallinarum* como para outros sorotipos, inclusive *Salmonella enteritidis*; no entanto, quando estas mesmas amostras foram submetidas ao isolamento bacteriano observou-se uma negatividade para a bactéria *Salmonella* sp. em todas as amostras analisadas. Poder-se-ia explicar tal resultado pela possibilidade de acontecerem resultados falso-positivos em SAR, devido a reações inespecíficas, ditas reações cruzadas, que podem ser encontradas em aves infectadas por *E. coli*, *Enterobacter* sp., *Proteus* sp. e *Lactobacillus*, que compatilham antígenos com *Salmonella*. (BERGQVIST, ROSENDE E BAUER, 1973).

Em concordância com os relatos de BERGQVIST, ROSENDE E BAUER, (1973), as monitorias dos lotes não devem ser baseadas apenas nos exames sorológicos, especialmente SAR, pois conforme o apresentado, podem ocorrer falhas na detecção da infecção. Os programas de prevenção e monitoria adotados nas criações avícolas devem ser direcionados para o isolamento. HIGGINS (1981) fizeram um estudo em nove lotes de frangos e encontraram oito deles contaminados. GOREN (1995), mostrou que a partir de 1989 a 1992 na Holanda, depois de surtos de *Salmonella enteritidis*, todos os lotes de reprodutoras foram monitorados por exames bacteriológicos de fezes, uma vez que todos os métodos e testes de soroaglutinação e ELISA não se mostraram suficientemente sensíveis ou específicos para detectar infecção por *Salmonella enteritidis*.

Nesta pesquisa, preferiu-se utilizar o teste de SAR e como exame complementar utilizou-se o isolamento bacteriano e para tal, a coleta foi realizada através de swabs cloacais como meio de obtenção do material a ser analisado do que um swab de arrasto a fim de se eliminar qualquer variante que pudesse influenciar tal resultado. HIGGINS (1981)

consideraram fezes frescas melhores indicadores e espécimes mais confiáveis que o swab cloacal enquanto que NAGAJARA, POMEROY e WILLIAMS (1991), citam em seu estudo o swab cloacal como melhor indicador na ave viva para isolamento bacteriano, concordando com base no qual adotou-se a metodologia empregada neste trabalho.

Das 300 amostras examinadas, nenhuma delas estava contaminada por *Salmonella* sp. O percentual médio de isolamento encontrado no presente estudo, em se tratando de exame dos swabs cloacais, foi de 0%, já os resultados de outros pesquisadores como ZANCAN (2000), foi de 77,13% quando analisou amostras coletadas de caixas de transportes de aves de um dia de idade de empresas localizadas em São Paulo. PEREIRA (1996), analisando 106 amostras de fezes em quatro empresas localizadas na região de São José do Vale do Rio Preto – RJ, encontrou somente três amostras contaminadas por *Salmonella enteritidis*. Resultados de outros pesquisadores, como WILLIAMS e DILLARD (1968) mostraram, nos Estados Unidos, um percentual de 40% das amostras de mecônios contaminadas por *Salmonella* do grupo paratifóide enquanto O'BRIEN (1988) encontrou 33,3% das amostras contaminadas por *Salmonella enteritidis* em três incubatórios examinados. COX e col. (1990), analisando swabs de gazes de 175 amostras de três incubatórios de reprodutoras, encontraram 75,4% contaminadas e outro estudo COX e col (1991) ao analisarem swabs de gazes dos mesmos incubatórios encontraram 11% destes contaminados com *Salmonella*, BAILEY e col. (1994) encontraram 17% das amostras de resíduos de pintos obtidos de incubatórios comerciais contaminados por *Salmonella* do grupo paratifóide.

O não isolamento de *Salmonella* nas aves analisadas pode ser atribuído a diversos fatores. Entre eles as boas condições higiênico-sanitárias dos incubatórios, ou seja, ao maior controle desta infecção nos incubatórios e nas granjas no momento de recebimento de tais aves.

O resultado encontrado no presente trabalho demonstra a importância de avaliar as aves nos primeiros dias de vida, devido seu controle ser mais fácil nesta fase. Conforme citam O'BRIEN (1988), LISTER (1988), McILROY e MCCRAKEN (1990), é muito importante uma avaliação das aves no primeiro dia de vida, no sentido de detectar a transmissão vertical e as condições higiênico-sanitárias das unidades de criação, pois uma contaminação nesta fase pode resultar na produção de aves ou ovos contaminados por *Salmonella*. Aves provenientes de ovos infectados são capazes de iniciar a disseminação da bactéria ainda no incubatório. Apesar de ter se encontrado negatividade em todas as amostras analisadas, esta avaliação deve ser contínua já que partindo do princípio de que a disseminação da infecção num plantel pode ocorrer de forma muito rápida causando grandes prejuízos nas propriedades avícolas.

CONCLUSÃO

Os resultados encontrados no teste de SAR não foram compatíveis com aqueles observados no isolamento bacteriano, mostrando assim, a necessidade da realização de exames sorológicos complementares mais sensíveis e específicos para *Salmonella* sp, como por exemplo, ELISA. De acordo com os resultados obtidos no isolamento bacteriano, os pintos com um dia de idade proveniente de empresas produtoras de frango de corte da Região Metropolitana de Fortaleza-CE, encontra-se em boas condições para alojamento, não oferecendo perigo nesta fase para outras aves que estão sendo alojadas neste momento.

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos a CAPES pelo apoio financeiro.

TABELA 1: Teste de soroglutinação rápida em placa para *Salmonella* sp. em aves de um dia de idade na empresa A de criação avícola de frango de corte da Região Metropolitana de Fortaleza – CE.

EMPRESA A		
Repetições	Nº de aves testadas	Aves Positivas
1ª Repetição	25	08
2ª Repetição	25	15
3ª Repetição	25	09
4ª Repetição	25	13
Total	100 amostras	45/100

TABELA 2: Teste de soroglutinação rápida em placa para *Salmonella* sp. em aves de um dia de idade na empresa B de criação avícola de frango de corte da Região Metropolitana de Fortaleza – CE.

EMPRESA B		
Repetições	Nº de aves testadas	Aves Positivas
1ª Repetição	25	05
2ª Repetição	25	10
3ª Repetição	25	03
4ª Repetição	25	16
Total	100 amostras	34/100

TABELA 3: Teste de soroglutinação rápida em placa para *Salmonella* sp. em aves de um dia de idade na empresa C de criação avícola de frango de corte da Região Metropolitana de Fortaleza – CE.

EMPRESA C		
Repetições	Nº de aves testadas	Aves Positivas
1ª Repetição	25	00
2ª Repetição	25	03
3ª Repetição	25	10
4ª Repetição	25	08
Total	100 amostras	21/100

TABELA 4: Isolamento de *Salmonella* sp. em aves de um dia de idade na empresa A de criação avícola de frango de corte da cidade de Fortaleza-CE.

EMPRESA A			
Repetições	Qtd. de amostras	Isolamento	%
1ª Repetição	25	0/25	0,00
2ª Repetição	25	0/25	0,00
3ª Repetição	25	0/25	0,00
4ª Repetição	25	0/25	0,00
Total	100 amostras	0/100	0,00

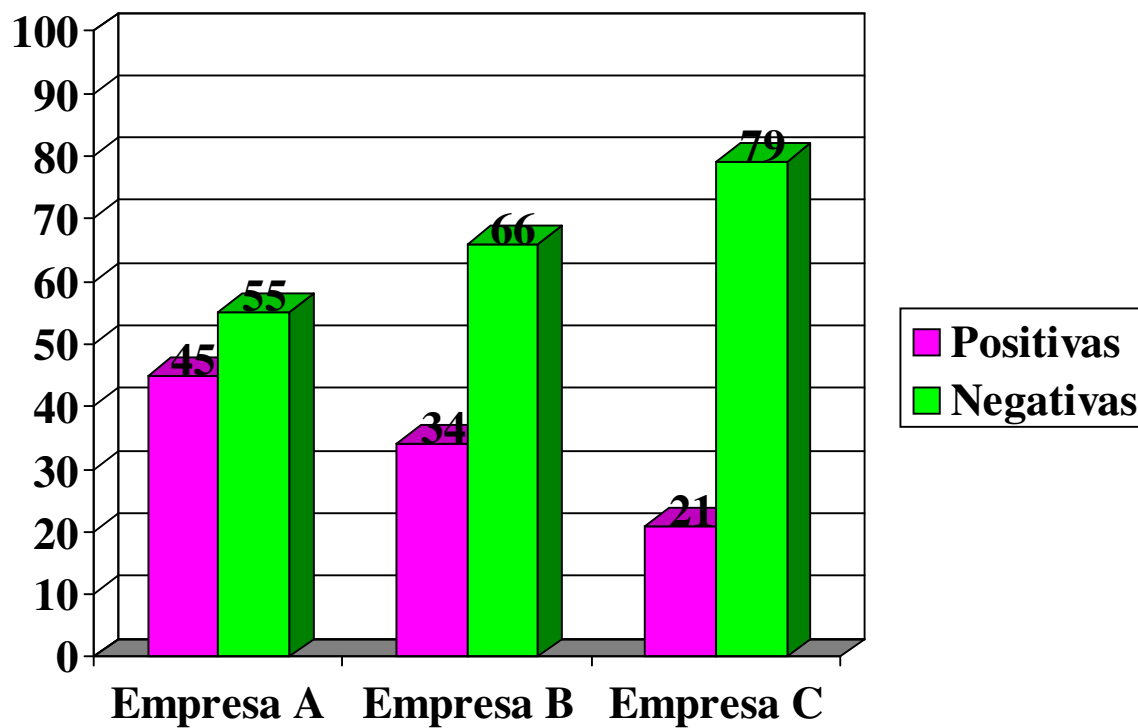
TABELA 5: Isolamento de *Salmonella* sp. em aves de um dia de idade na empresa B de criação avícola de frango de corte da cidade de Fortaleza-CE.

EMPRESA B			
Repetições	Qtd. de amostras	Isolamento	%
1ª Repetição	25	0/25	0,00
2ª Repetição	25	0/25	0,00
3ª Repetição	25	0/25	0,00
4ª Repetição	25	0/25	0,00
Total	100 amostras	0/100	0,00

TABELA 6: Isolamento de *Salmonella* sp. em aves de um dia de idade na empresa C de criação avícola de frango de corte da cidade de Fortaleza-CE.

EMPRESA C			
Repetições	Qtd. de amostras	Isolamento	%
1ª Repetição	25	0/25	0,00
2ª Repetição	25	0/25	0,00
3ª Repetição	25	0/25	0,00
4ª Repetição	25	0/25	0,00
Total	100 amostras	0/100	0,00

FIGURA 1: Distribuição dos resultados encontrados no teste de soroaglutinação rápida em placa, por empresas



REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

BAILEY, J. S., COX, N. A., BERRANG, M.E. Hatchery-acquired *Salmonellae* in broiler chicks. **Poultry Science**, v. 73,p. 1153-1157, 1994.

BAILEY, J. S. Controle da *Salmonella* em incubatório. Conferência APINCO 2000 de Ciências e Tecnologia avícola. **Anais...**v. 1, p. 31 – 39.

BERCHIERI, JR., A.; BARROW, P. A. Patologia e métodos de diagnósticos. In: CONFERÊNCIA APINCO 1995 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, Curitiba. **Anais...**p 1-5, 1995.

BERGQVIST, E.; ROSENDE, S.; BAUER, R. Factores que pueden alterar una prueba de hemoaglutinacion en el diagnostico de Pullorosis. **Agricultura Técnica.**, Santiago, vol. 33, p.204 – 208, 1973.

BEZERRA, ROSÉLIA. **Recuperação e pesquisa de *Salmonella* spp e detecção de anticorpos em ovos comerciais de galinha *Gallus gallus* (Linnaeus, 1758).** 1995, 59f. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia Experimental e Aplicada e Zoonoses) – Universidade de São Paulo. São Paulo.

COX, N. A., BAYLE, J.S. BERRANG, M.E. Presence and impact of *Salmonella* contamination in commercial broiler hatcheries. **Poultry Science**, v. 69, p. 1606 –1609, 1990.

COX, N. A., BAYLE, J.S. BERRANG, M.E. Extent of *Salmonellae* contamination in breeder hatcheries. **Poultry Science**, v. 70, p. 416-418, 1991.

GORDON, R.F., TURCKEY, J.F. The epizootiology of *Salmonella menston* infection of fowls and effect of feeding poultry food artificially infected with *Salmonella*. **Poultry Science**, v.6, p. 251-264,1965.

GOREN, E. Eliminação do Estado Portador de *Salmonella enteritidis* mediante tratamento com enrofloxacinna seguindo aplicação de microflora intestinal, **Avicultura Industrial**, v.10, n.3, p. 23, 1993.

HIGGINS, R. Studies on the dissemination of *Salmonella* in nine broiler flocks. **Avian Diseases**, v. 26, n.4, p. 26-33, 1981.

HINTON, M. *Salmonella* infection in chicks following the consumption of artificially contaminated feed. **Epidemiology and Infection**, v. 100, p. 247-256, 1988.

KAMPELMACHER, E.H. Poultry disease and public health. **British Poultry Science**, v.28, p.3-13, 1987

LISTER, S. A. *Salmonella enteritidis* infection in broiler and broiler breeders. **Veterinary Record**, v. 123, n. 13, p. 350, 1988.

MCILROY,S.G., MCCRAKEN, R.M. The current status of the *Salmonella enteritidis* control programme in the United Kingdom. In: ANNUAL MEETING OF THE US ANIMAL HEALTH ASSOCIATION, 94, London, Proceedings...p. 450-462, 1990.

NAGARAJA, K.V., POMEROY, B. S., WILLIAMS, J.E. Paratyphoid infections. In: CALNEY, B. W. et al. **Diseases of Poultry**, 9 ed., Iowa: Iowa State University Press, 929 p., cap.3, p. 99 – 129, 1991.

NASCIMENTO, V. P. Salmoneloses paratíficas: Uma revisão e situação atual. In: SIMPÓSIO TECNICO DE PRODUÇÃO DE OVOS – APA, 6, 1996, São Paulo. **Anais**. São Paulo: Associação Paulista de Avicultura. p. 93- 116, 1996.

O'BRIEN, J.D.P. *Salmonella enteritidis* infection in broiler chickens. **Veterinary Record**, v.122, p.214, 1988.

PEREIRA, V.L.A. **Presença de *Salmonella* em frangos de corte aparentemente sadios em unidades de criação industrial na região de São José do Vale do Rio Preto-RJ**. 1996,76f. Dissertação (Mestrado em Patologia Veterinária – Ornitopatologia) – Universidade Federal Fluminense. Rio de Janeiro.

SNOEYENBOS, G.H., SMYSER, C. F., ZAN ROEKEL, H. *Salmonella* infections of ovary and peritoneum of chickens. **Avian Diseases**, v.13, p. 668-670, 1969.

SNOEYENBOS, G.H. Novas técnicas para controle de salmonelas a nível de granjas. In: PRODUÇÃO E QUALIDADE DE PINTOS DE UM DIA, 1981, Belo Horizonte. **Anais ...** Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 1981. 362., p. 353 – 362

TIZARD, I.R. **Imunologia Veterinária: uma introdução**. 5 ed. São Paulo: Rocca, 544 p, 1998

WILLIAMS, J.E., DILLARD, L.H. Penetration of chicken egg shells by members of the Arizona group. **Avian Diseases**, v.12, p.645-649, 1968.

WRAY, C., DAVIES, R. H. **Guideline on Detection and Monitoring of *Salmonella* infected Poultry Flocks with particular reference to *Salmonella enteritidis***, Graz, Austria: WHO, 1994, p. 8-17.

WRAY, C, DAVIES, R. H. Control ambiental de *Salmonella*. **Avicultura Profissional**, v.18, n. 5, p. 18-21, 2000.

ZANCAN, F .T.; BERCHIERI JR, A.; FERNÁNDES, S. A.; GAMA, N. M. S. Q. *Salmonella* investigation in transport boxes of day-old birds. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.31, p. 230 – 232, 2000.

CONCLUSÕES GERAIS

Baseando-se nos resultados obtidos pode-se dizer que:

- Os resultados positivos no teste de soroaglutinação rápida em placa não foram compatíveis com os resultados observados no isolamento bacteriano que não detectou *Salmonella* sp. nas amostras analisadas;
- O teste de soroaglutinação rápida em placa não deve ser utilizado como única prova para detecção de aves portadoras de *Salmonella* sp.;
- De acordo com o isolamento bacteriano, os pintos de frango de corte analisados com um dia de idade, encontra-se em boas condições para alojamento, não oferecendo perigo nesta fase para outras aves que estão sendo alojadas neste momento;
- A qualidade microbiológica dos pintos de corte alojados na Região Metropolitana de Fortaleza em relação a *Salmonella* pode ter reflexos positivos sobre a qualidade do produto final para o consumo humano, atendendo-se às recomendações de manejo, biossegurança e processamento final no abatedouro.

PERSPECTIVAS

Os estudos realizados neste experimento mostram que a *Salmonella* ainda provoca riscos para a avicultura industrial, devido à grande dificuldade de seu controle através dos testes utilizados que não são totalmente confiáveis. No entanto a possibilidade de controlar a infecção logo no início da vida das aves não pode ser descartada, sendo, portanto de extrema importância uma avaliação destas logo nos primeiros dias de vida através de testes mais confiáveis, tais como ELISA e isolamento bacteriológico para que a infecção seja detectada precocemente e os programas de controle para *Salmonella* sejam realizados com sucesso, pois somente desta forma utilizando-se de todos os meios para combater esta infecção, futuramente pode-se chegar a ter plantéis de aves livres de *Salmonella*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACHA, N.P.; SZYFRES, B. Salmonelosis. In: **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y los animales**. 2 ed. Washigton: Organização Panamericana de la Salud, p. 158-166, 1986.
- BARROW, P. A. Experimental infection of chickens with *Salmonella enteritidis*. *Avian Pathology*, v. 22, p. 651 – 699, 1993.
- BARROW, P.A., LOVELL, M.A. Experimental infection of egg-laying hens with *Salmonella enteritidis* phage tipe 4. **Avian Pathology**, v.20, p.335-348, 1991.
- BAILEY, J. S., COX, N. A., BERRANG, M.E. Hatchery-acquired Salmonellae in broiler chics. **Poultry Science**, v. 73,p. 1153-1157, 1994.
- BAILEY, J. S. Controle da *Salmonella* em incubatório. Conferência APINCO 2000 de Ciências e Tecnologia avícola. **Anais...v. 1**, p. 31 – 39.
- BERCHIERI, JR., A. Paratifo: Como Podemos Controlá-lo ou Erradicá-lo a nível de produção. In: CONFERÊNCIA APINCO 1991 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1991, Santos. **Anais...** p. 49-62.
- BERCHIERI, JR., A.; FERNANDES, S. A.; IRINO, K.; QUINTANA, J. L.; SANTOS, A. J. *Salmonella* in poultry feeds in Brazil. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v. 24, n.1, p.22-25, 1993.
- BERCHIERI, JR., A.; BARROW, P.A. Patologia e métodos de diagnóstico. In: CONFERÊNCIA APINCO 1995 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1995, Curitiba. **Anais...**p 1-5.
- BERGQVIST, E.; ROSENDE, S.; BAUER, R. Factores que pueden alterar una prueba de hemoaglutinacion en el diagnostico de Pullorosis. **Agricultura Técnica.**, Santiago, vol. 33, p.204 – 208, 1973.
- BEZERRA, ROSÉLIA. **Recuperação e pesquisa de *Salmonella* spp e detecção de anticorpos em ovos comerciais de galinha *Gallus gallus* (Linnaeus, 1758)**. 1995, 59f. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia Experimental e Aplicada e Zoonoses) – Universidade de São Paulo. São Paulo.
- BIER, O. **Bacteriologia e Imunologia**. 22 ed. São Paulo: Melhoramentos. 1062 p, 1982.

- BOARD, R.G. **Egg Quality**: a study of the hen's egg. Edinburgh: Oliver and Boyd., , p. 133, 1968.
- BUNYEA, H., HALL, W.J., DORSET, M. A. A simplified agglutination test for pullorum disease. **Journal American Veterinary Medical Association**, v. 28, n.4, p. 408-410, 1929.
- CORRÊA, W.M., CORRÊA, C.M. Paratífos em geral. In: **Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos**. 2 ed. Rio de Janeiro: MEDSI, p.167-174, 1992.
- COX, N. A., BAYLE, J.S. BERRANG, M.E. Presence and impact of *Salmonella* contamination in commercial broiler hatcheries. **Poultry Science**, v. 69, p. 1606 – 1609, 1990.
- COX, N. A., BAYLE, J.S. BERRANG, M.E. Extent of *Salmonellae* contamination in breeder hatcheries. **Poultry Science**, v. 70, p. 416-418, 1991.
- CRAVEN, S. E.; WILLIAMS, D. D. Inhibition of *Salmonella typhimurium* attachment to cecal muco by intestinal isolates of Enterobacteriaceae and Lactobacili. **Avian diseases**, v. 41, 548 – 558, 1996.
- DUCHET-SUCHAUX, M.; LÉCHOPIER, P; MARLY, J.; BERNARDET, R D and PARDON, P. Quantification of experimental *Salmonella enteritidis* carrier state in B13 leghorn chicks. . **Avian Diseases**, v.39, p.796-803, 1995.
- EWING, W, H. **Edwards and Ewing's identification of Enterobacteriaceae**. 4 ed., Elsevier Science Publishing Co.: New York, 1986. 536 p.
- FADDOUL, G. P., FELLOWS, G.W. A five years survey of the evidence of salmonellae in avian species. **Avian Diseases**, v.10, p.296-304, 1966.
- FANELLI, M. J.; SADLER, W.W.; BROWNELL, J.R. Preliminary studies on persistence of *Salmonellae* in poultry litter. **Avian Diseases**, v. 14, p. 131- 141, 1970.
- GAST, R. K.; BEARD, C.W. Production of *Salmonella enteritidis* contaminated eggs by experimentally infected hens. *Avian Diseases*, v. 34, p. 438 – 446, 1990
- GAST, R.K.. *Salmonella* infections, 1997, p. 81-122. In: CALNEY, B.W. (ed). **Diseases of Poultry**, 10thed. Iowa State University Press, Ames.
- GAST, R. K. RICHARD. Detecting Infections of Chickens With Recent *Salmonella Pullorum* Isolates using Standard Serological Methods. **Poultry Science**, v. 76, p. 17 – 23,1997.

GAST, R.K., HOLT, P. S. Application of flagella-based immunoassays for serologic detection of *Salmonella pullorum* infection in chickens. **Avian Diseases**, v. 42, p. 807 – 811, 1998.

GIORGI, W. **Animais domésticos como portadores de salmonelas: significado epidemiológico e sua relação com saúde pública**. 1972, São Paulo, 55p. Tese – Instituto de Ciências Biomédicas – Universidade de São Paulo.

GORDON, R.F., TURCKEY, J.F. The epizootiology of *Salmonella menston* infection of fowls and effect of feeding poultry food artificially infected with *Salmonella*. **Poultry Science**, v.6, p. 251-264, 1965.

GOREN, E. Eliminação do Estado Portador de *Salmonella enteritidis* mediante tratamento com enrofloxaciná seguindo aplicação de microflora intestinal, **Avicultura Industrial**, v.10, n.3, p. 23, 1993.

GUERREIRO, M.G. **Bacteriologia especial com interesse em saúde pública**. Porto Alegre: Sulina, p.162, 1984.

HENKEN, A.. M.; FRANKENA, K.; GOELEMA, J. O; GRAAT, E. A. M.; NOORDHUIZEN, J. P. T. M. Multivariate epidemiological approach to salmonellosis in broiler breeder flocks. **Poultry Science**, v.71, n. 5, p.838-843, 1992.

HIGGINS, R. Studies on the dissemination of *Salmonella* in nine broiler flocks. **Avian Diseases**, v. 26, n.4, p. 26-33, 1981.

HINTON, M. *Salmonella* infection in chicks following the consumption of artificially contaminated feed. **Epidemiology and Infection**, v. 100, p. 247-256, 1988.

HINTON, M. *Salmonella* infection in poultry and their control. In: CONFERÊNCIA APINCO 92 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1992, Santos. **Anais...** Campinas: Associação dos Produtores de Pintos de corte, 1992, p. 119 – 122.

HOFER, E. Diagnóstico bacteriológico das salmoneloses aviárias. In: PRODUÇÃO E QUALIDADE DE PINTOS DE UM DIA, 1981, Brasília. **Anais...** Universidade Federal de Minas Gerais: Belo Horizonte, 1981. 362p, p.311-318.

HOLT, J. G. **Bergey's**: manual of determinative bacteriology 9 e, Baltimore: Williams & William, p.186-187, 1994.

ITO, N. M. K. Monitoria das salmoneloses aviárias. Informativo Técnico SPAVE, São Paulo, p. 1-20, 1995.

JAVET, T. Occurrence of *Salmonella* in Avifauna. **Pakistan Veterinary Journal**, v.14, n.4, p.254-257, 1994.

JOHNSON, D.C., DAVID, M. GOLDSMITH, S. Epizootiological Investigation of an outbreak of pullorum disease in an Integrated broiler operation. **Avian Diseases**, v.36, p. 770-775, 1992.

KAMPELMACHER, E.H. Poultry disease and public health. **British Poultry Science**, v.28, p.3-13, 1987.

KOTTOM, T. J., NOLAN, L. K. , BROWN, J. Invasion of caco-2 cells by *Salmonella typhimurium* (copenhagen) isolates from healthy and sick chickens. **Avian Diseases**, v.39, p.867-872, 1995.

LINE, J. E.; BAILEY, J. S.; COX, N. A.; STERN, N. J. , TOMPKINS, T.. Effect of yeast-supplemented feed on *Salmonella* and *Campylobacter* populations in broilers. **Poultry Science**, v.77, p.405 – 410, 1998.

LING, J. M ;LO , N. W. S. ; HO, Y. M.; KAM, K. M.; HOA, N. T. T.; PHI, L. T; CHENG, A. F. Molecular methods for the epidemiological typing of *Salmonella enterica* serotype typhi from Hong Kong -Vietnam.. **Journal of Clinical Microbiology**. v. 38. n. 1, p . 292 - 300, 2000.

LISTER, S. A. *Salmonella enteritidis* infection in broiler and broiler breeders. **Veterinary Record**, v. 123, n. 13,p. 350, 1988.

LOZANO, F. Uso de uma bacterina contra *Salmonella enteritidis* como parte integral de um programa de controle na indústria avícola. In: SIMPÓSIO TÉCNICO DE PRODUÇÃO DE OVOS – APA, 6, 1996, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Associação Paulista de Avicultura, p. 107 – 126, 1996.

MACHADO, A. A. C. **Prospecção sorológica de *Salmonella pullorum* em pombos (*Columbia lívia*) capturados em granjas avícolas de Fortaleza-CE.** 2000, 45 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinária) – Universidade Estadual do Ceará. Ceará.

MCILROY, S.G., MCCRAKEN, R.M. The current status of the *Salmonella enteritidis* control programme in the United Kingdom. In: ANNUAL MEETING OF THE US ANIMAL HEALTH ASSOCIATION, 94, London, Proceedings...p. 450-462, 1990.

- MERCHANT, I.A, PACKER, R.A. **Bacteriologia y Virologia Veterinaria**, 3 ed.: Zaragoza. Acribia, p.299-322, 1980.
- NAGARAJA, K.V., POMEROY, B. S., WILLIAMS, J.E. Paratyphoid infections. In: CALNEY, B. W. et al. **Diseases of Poultry**, 9 ed., Iowa: Iowa State University Press, 929 p., cap.3, p. 99 – 129, 1991.
- NASCIMENTO, V. P. Salmoneloses paratíficas: Uma revisão e situação atual. In: SIMPÓSIO TÉCNICO DE PRODUÇÃO DE OVOS – APA, 6, 1996, São Paulo. **Anais**. São Paulo: Associação Paulista de Avicultura, p. 93- 116, 1996.
- NAVARRO, M. P. Infecção por *Salmonella enteritidis* em reprodutoras pesadas na América Latina. **Anais da conferência APINCO**, p. 165 – 170, 1995.
- O'BRIEN, J.D.P. *Salmonella enteritidis* infection in broiler chickens. **Veterinary Record**, v.122, p.214, 1988.
- PALMU, L.; CAMELIN, I. The use of competitive exclusion in broilers to reduce the level of *Salmonella* contamination on the farm and at the processing plant. **Poultry Science**, v. 76, p. 1501 – 1505, 1997.
- PELZER, K. D. Salmonellosis. Zoonosis update, v. 195, n.4, p 456 – 463, 1989.
- PEREIRA, V.L.A. **Presença de *Salmonella* em frangos de corte aparentemente sadios em unidades de criação industrial na região de São José do Vale do Rio Preto-RJ**. 1996, 76f. Dissertação (Mestrado em Patologia Veterinária – Ornitopatologia) – Universidade Federal Fluminense. Rio de Janeiro.
- PORTER, S. B., CURTISS, R.. Effect of inv Mutations on *Salmonella* Virulence and Colonization in – Day – Old White Leghrn Chicks. **Avian Diseases**, v. 41, p. 45 – 57, 1997.
- ROSE, N.; BEAUDEAU, F.; DROUIN, P.; TOUX, J. Y.; ROSE, V. and COLIN, P.. Risk factors for *Salmonella* persistence after cleansing and disinfection in french broiler-chicken houses. **Preventive Veterinary Medicine**, v.44, p. 9 – 20, 2000.
- RUNNELS, R. A. An application of the rapid method agglutination test in the diagnosis of Bacillary White Diarrhoea Infection. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 70, p. 660-667, 1927

SATO, Y.; SATO, G.; TUCHILI, L.; PANDEY, G.S.; NAKAGIMA, A.; CHIMANA, H.; SINSUNGWE, H. Status of *Salmonella gallinarum-pullorum* infections in poultry in Zambia. **Avian Diseases**, v.41, p. 490 – 495, 1997.

SCHAFFER, J. M. Stained antigen for the rapide whole blood test for pullorum disease. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 79, p. 236-240, 1931.

SHIVAPRASAD, H. L. Pullorum diseases and fowl typhoid, 1997. In: CALNEY, B. W.; BARNES, H. J. BEARD, C. W.; MCDUGALD, L. R. and SAIF, Y. M. **Diseases of Poultry**, p. 82 – 96.

SILVA, J.M.L. Salmonelose na indústria avícola brasileira – A ameaça do Tifo Aviário. In: **Produção e qualidade de pintos de um dia**, 1981, Brasília, Anais. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, p. 319-330, 1981.

SILVA, E.N Salmonelose: Problemas Atuais de Patologia Aviária e Saúde Pública. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1991, Campinas. **Anais...** Campinas: Associação dos Produtores de Pinto de Corte, p. 37-47, 1991.

SILVA, E.N. *Salmonella enteritidis* em avicultura, o que de prático podemos fazer? In: CONFERENCIA APINCO 96 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1996, Curitiba. **Anais...** Campinas: associação dos Produtores de pintos de corte. 210p, p. 207 – 210, 1996.

SNOEYENBOS, G.H., SMYSER, C. F., VAN ROEKEL, H. *Salmonella* infections of ovary and peritoneum of chickens. **Avian Diseases**, v.13, p. 668-670, 1969.

SNOEYENBOS, G.H. Novas técnicas para controle de salmonelas a nível de granjas. In: PRODUÇÃO E QUALIDADE DE PINTOS DE UM DIA, 1981, Belo Horizonte. **Anais ...** Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 1981. 362., p. 353 – 362

TIZARD, I.R. **Imunologia Veterinária: uma introdução**. 5 ed. São Paulo: Rocca, 544 p, 1998

TRABULSI, L. R. **Microbiologia**. 2.ed. Livraria Atheneu: Rio de Janeiro, 1991.386 p. Parte II, Cap. 25 : Generalidades sobre Enterobactérias, p. 103-237.

TURNBULL, P.C.B., RICHMOND, J.E. A model of *Salmonella enteritidis*: The behaviour of *Salmonella enteritidis* in chick intestine studies by light and electron microscopy. **British Journal of Experimental Pathology**, v. 9, p. 64, 1978.

TURNBULL, P.C.B., SNOEYENBOS, G.H. Experimental salmonellosis in the chicken. Fate and host response in alimentary canal, liver and spleen. **Avian Diseases**, v.18, p.153-177, 1974.

WALTMAN, W. D., HORNE, A. M. Isolation of *Salmonella* from chickens reacting in the pullorum-typhoid agglutination test. **Avian Diseases**, Georgia, v. 37, p. 805-810, 1993.

WILLIAMS, J.E., DILLARD, L.H. Penetration of chicken egg shells by members of the Arizona group. **Avian Diseases**, v.12, p.645-649, 1968.

WRAY, C., DAVIES, R. H. **Guideline on Detection and Monitoring of *Salmonella* infected Poultry Flocks with particular reference to *Salmonella enteritidis***, Graz, Austria: WHO, p. 8-17, 1994.

WRAY, C, DAVIES, R. H. Control ambiental de *Salmonella*. **Avicultura Professional**, v.18, n. 5, p. 18-21, 2000.

ZANCAN, F .T.; BERCHIERI JR, A.; FERNÁNDES, S. A.; GAMA, N. M. S. Q. *Salmonella* investigation in transport boxes of day-old birds. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.31, p. 230 – 232, 2000.