



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE VETERINÁRIA**  
**Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias**

**Rosa Patrícia Ramos Salles**

**PESQUISA DE *Salmonella* spp. EM GALINHAS POEDEIRAS E  
ENTEROBACTÉRIAS EM OVOS COMERCIAIS DA REGIÃO METROPOLITANA  
DE FORTALEZA**

**Fortaleza**

**2007**

**ROSA PATRÍCIA RAMOS SALLES**

**PESQUISA DE *Salmonella* spp. EM GALINHAS POEDEIRAS E  
ENTEROBACTÉRIAS EM OVOS COMERCIAIS DA REGIÃO METROPOLITANA  
DE FORTALEZA**

Tese submetida à coordenação do Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias – Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutorado em Ciências Veterinárias.

Área: Reprodução e Sanidade Animal.

Orientador: Prof. Dr. William Cardoso Maciel

**Fortaleza**

**2007**

S168p Salles, Rosa Patrícia Ramos

Pesquisa de *Salmonella* spp. em galinhas poedeiras e enterobactérias em ovos comerciais da Região Metropolitana de Fortaleza / Rosa Patrícia Ramos Salles. — Fortaleza, 2007.  
136., il.

Orientador: Prof. Dr. William Cardoso Maciel

Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) –  
Universidade Estadual do Ceará, Faculdade de Veterinária.

1. *Salmonella*. 2. Poedeira. 3. Ovos.  
I. Universidade Estadual do Ceará, Faculdade de Veterinária.

CDD: 636.5

## **ROSA PATRÍCIA RAMOS SALLES**

### **PESQUISA DE *Salmonella* spp. EM GALINHAS POEDEIRAS E ENTEROBACTÉRIAS EM OVOS COMERCIAIS DA REGIÃO METROPOLITANA DE FORTALEZA**

Tese submetida à coordenação do Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias – Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutorado em Ciências Veterinárias.

Aprovada em: 18/12/2007

#### **Banca Examinadora**

---

**Prof. Dr. William Cardoso Maciel**

**Orientador**

---

**Prof<sup>a</sup>. Dra. Virgínia Léo de Almeida Pereira**

**Examinadora – UFF**

---

**Prof<sup>a</sup>. Dra. Salette Lobão Torres Santiago**

**Examinadora – UECE**

---

**Dra. Nilce Maria Soares Queiroz Gama**

**Examinadora – Instituto Biológico**

---

**Prof. Dr. Marcos Fábio Gadelha Rocha**

**Examinador – UECE**

Aos meus pais (Pedro de Castro Salles e Quitéria de Ramos Salles) e aos meus amores (Cássio Scannapieco Júnior e Mariana Salles Scannapieco), dedico.

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Estadual do Ceará - UECE representada pelo Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias - PPGCV - e seu corpo docente, pela competência e conduta na transmissão de seus conhecimentos.

A CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pelo apoio financeiro com a manutenção da bolsa de auxílio durante o curso de doutorado, contribuindo para que eu tivesse condições de concluir essa importante etapa da minha vida.

Ao Instituto Adolfo Lutz, onde as amostras foram sorotipadas.

## AGRADECIMENTOS

Inicialmente quero agradecer a DEUS por ter me concedido grandes oportunidades na vida, inclusive a de concluir o curso de Doutorado.

Aos meus pais, Pedro de Castro Salles e Quitéria de Ramos Salles, que me proporcionaram um alicerce familiar forte, me dando exemplos de caráter, honestidade, e principalmente muito AMOR.

Aos meus queridos irmãos, João Rufino de Salles, Rosa Maria de Ramos Salles, Rosa Helena Salles de Brito e Rosa Ângela Salles Viana pelo incentivo, amor e união.

Ao meu marido Cássio Scannapieco Júnior por me incentivar sempre nos momentos difíceis, pelo carinho e companheirismo.

Ao meu presente maior, Mariana Salles Scannapieco, nascida em 2005, durante o segundo ano do curso de doutorado.

Ao meu Orientador e amigo Professor Dr. William Cardoso Maciel, que me incentivou a voltar à vida acadêmica após 15 anos da graduação, pela oportunidade concedida de realizar os cursos de Mestrado e Doutorado sob sua orientação e estreitar os nossos laços de amizade durante esse período.

Aos amigos e verdadeiros “anjos” Walber Feijó de Oliveira e Suiany Rodrigues Câmara pelo inestimável auxílio através da coleta de material e realização das provas após o nascimento da Mariana sempre com muita disposição em ajudar-me.

Ao professor José Tarcísio Sampaio Pimenta, (*in memorian*), que atuou como meu orientador de iniciação científica durante a graduação na disciplina de Histologia da qual fui monitora.

Ao professor e amigo Adriano Cordeiro Gadelha (*in memorian*), que participou da minha banca de seminário, pelas sugestões e aos bons momentos que partilhamos como profissionais, agradeço.

Aos Doutores Marcos Fábio Gadelha Rocha e Salette Lobão Torres Santiago por terem participado das minhas bancas desde a época do mestrado, pelas valiosas sugestões para a realização deste trabalho.

Aos amigos do LABEO, em especial, Régis Siqueira de Castro Teixeira e Josué Moura Romão que me auxiliaram na execução dos artigos e ao Adonai Aragão de Siqueira, George Cândido Nogueira e Emanuella Evangelista da Silva que auxiliaram na execução laboratorial sempre com muita presteza.

Aos empresários avícolas que abriram as portas de suas empresas, contribuindo para que a nossa pesquisa fosse realizada.

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho e para o meu aprimoramento profissional.

“A vida sem luta é um mar morto no  
centro do organismo universal”

(Machado de Assis)

## RESUMO

A salmonelose, causada por microrganismos do gênero *Salmonella*, é uma das zoonoses de maior prevalência nos países desenvolvidos e em desenvolvimento, sendo os produtos avícolas considerados potencial fonte de tal infecção. Este trabalho teve por objetivo isolar e tipificar *Salmonella* spp. em lotes de poedeiras comerciais de oito empresas e *Salmonella* spp. e outras enterobactérias de ovos oriundos das mesmas empresas e de seis supermercados da Região Metropolitana de Fortaleza-CE. Para tal objetivo, desenvolveram-se quatro experimentos (E). No E1, foi feito suabe de arrasto no forro de cinco caixas de transporte por lote, no primeiro dia de vida, totalizando 40 amostras. No E2, foi coletado “pool” de 100 fezes frescas dos cecos, abaixo das gaiolas dos mesmos lotes (oito) do E1, com espátula esterilizada, às 10, 20, 30 e 40 semanas de idade, o qual foi depositado em frascos estéreis. No E3, foram coletados 30 ovos dos mesmos lotes do E1 e E2 quando as aves tinham 20, 30 e 40 semanas de idade, totalizando 720 ovos. No E4, foram coletados 30 ovos de três empresas em seis supermercados. Esses 30 ovos foram divididos em 54 amostras constituídas do “pool” de 10 ovos. Em todos os experimentos, as amostras foram transportadas, sob refrigeração, ao laboratório de análises para pesquisa de *Salmonella*, incluindo outras enterobactérias no E3 e E4. O procedimento microbiológico para isolamento e identificação de *Salmonella* seguiu as recomendações da Organização Mundial de Saúde (OMS), Unidade Veterinária de Saúde Pública, com algumas modificações, compostas pelas seguintes etapas: pré-enriquecimento com Água Peptonada, seguido pelo enriquecimento seletivo com os caldos Rappaport-Vassiliadis e Seletino-Cistina, plaqueamento em Ágar Verde Brilhante e MacConkey e, posteriormente, submetidos à identificação bioquímica presuntiva. As colônias suspeitas de pertencerem ao gênero *Salmonella* foram testadas sorologicamente com os antisoros anti-antígeno flagelar H e anti-antígeno somático O. As colônias que reagiram positivamente foram conservadas em Ágar Nutriente e remetidas ao Instituto Adolfo Lutz em São Paulo para sorotipagem. Todas as amostras foram negativas para *Salmonella* no E1, E3 e E4, porém, no E2, foi isolada *Salmonella enterica* subespécie *enterica* cepa rugosa, e *Salmonella* Newport nas empresas 2 e 6, às 20 e 40 semanas de idade, respectivamente. A presença de *Salmonella*, em 6,25 % das amostras de fezes, sugere que as aves foram contaminadas nas granjas, pois os mesmos lotes foram negativos na análise do forro de caixas de transporte e nas amostras de ovos, portanto não houve transmissão vertical nas amostras analisadas e mostrando a necessidade de programa preventivo mais eficaz nas empresas produtoras de ovos. No E4, os ovos de supermercados e os das granjas apresentaram 83,34 % e 66,6 % de contaminação com outras enterobactérias, respectivamente, sendo as mais isoladas *Proteus*, *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Serratia*. A diferença de 16,74 % de isolamento entre eles, pode estar relacionada à manipulação dos ovos.

**Palavras-chave:** *Salmonella*, enterobactérias, poedeiras, fezes, ovos

## ABSTRACT

Salmonellosis is one of the most important zoonosis in developed and developing countries. It is caused by *Salmonella* and poultry products are considered as a main source for this infection. This research aimed to isolate and identify *Salmonella* spp. from laying flocks of eight poultry farms and other enterobacteria in eggs from the same poultry farms and six supermarkets in Metropolitan Region of Fortaleza-CE. This way, four experiments were carried out (E). In E1, swab collections were performed in transport boxes of day-old-chicks, totaling 40 feces samples (5 samples/flock). In E2, a pool of feces (100 samples) was collected from the floor under the laying cages in the same flocks at 10, 20, 30 and 40 weeks of age. In E3, a total number of 720 eggs was obtained from the poultry farms, the eggs were collected from the same flocks at three different ages, when the chickens were 20, 30 and 40 week-age. In E4, a number of 540 eggs was collected from six supermarkets and they were divided into 54 samples, each sample consisted of 10 eggs pool. Three different egg brands were randomly chosen in each supermarket and for each brand, 30 eggs in commercial trays were collected. In all experiments, the samples were maintained under refrigerated temperature until they arrived in analyses laboratory for *Salmonella* research and other enterobacteria in E3 and E4. The microbiological procedures for *Salmonella* isolation and identification followed the instructions of World Health Organization (WHO), Unit of Veterinary and Public Health with some modifications. The samples were submitted to pre-enrichment with buffered peptone water, followed by enrichment with Rappaport-Vassiliadis and Selenite-Cystine, streaked on plates with Brilliant Green and MacConkey agars, and to presumptive biochemical identification. The colonies which were suspect for *Salmonella* were submitted to serologic tests with *Salmonella* antiserum O and *Salmonella* antiserum H. Positive samples were replicated in Nutrient Agar and sent to enterobacteria department in Instituto Adolfo Lutz for characterization. All the samples were negative for *Salmonella* in E1, E3, and E4. However in E2, *Salmonella enterica* rough strain and *Salmonella* Newport were found in two flocks at 20 and 40 weeks of age, respectively. The occurrence of *Salmonella* in 6.25 % of the feces samples suggest that the birds were infected after they arrived in the poultry farms, because these flocks were negative for *Salmonella* when they were day old chicks. This way, there was no vertical infection, indicating the need for a more efficacious preventive program in the poultry farms for egg production. In E4, other potentially pathogenic enterobacteria were isolated in egg samples. The most isolated were *Proteus*, *Enterobacter*, *Klebsiella* and *Serratia*. It was also verified that the frequency of enterobacteria isolated was higher in eggs from supermarkets (83.34 %) compared to eggs collected from poultry farm (66.6 %). The difference of 16.74 % concerning isolates was probably related to an increased manipulation of the eggs until they get the supermarkets.

**Key words:** *Salmonella*, enterobacteria, laying hens, feces, eggs

## SUMÁRIO

	Pág.
LISTA DE FIGURAS E TABELAS	13
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	15
1. INTRODUÇÃO	17
2. REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1. Histórico	19
2.2. Etiologia	20
2.3. Patogenia	22
2.4. Epidemiologia	28
2.5. Saúde Pública	36
2.6. Métodos de Diagnóstico	46
2.7. Controle	54
3. JUSTIFICATIVA	64
4. HIPÓTESE CIENTÍFICA	65
5. OBJETIVOS	66
6. CAPÍTULO I	67
7. CAPÍTULO II	79
8. CONCLUSÕES	93
9. PERSPECTIVAS	94
10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	95

## LISTA DE FIGURAS E TABELAS

		Pág.
Tab. 1.	Isolamento de <i>Salmonella</i> de fontes humanas e não humanas entre os anos de 91-95.	39
Tabela 1	Relação entre número de lotes examinados (amostras de fezes) e lotes positivos para <i>Salmonella</i> durante o período de agosto de 2004 a janeiro de 2006	73
Figura 1	Percentage of contaminated eggs with each enterobacteria isolated in eggs from supermarkets in Metropolitan Region of Fortaleza, Brazil	86
Figura 2	Percentage of contaminated eggs with each enterobacteria isolated in eggs from poultry in Metropolitan region	86

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

<b>Abreviatura ou Símbolo</b>	<b>Significado</b>
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
APHA	American Public Health Association
BAM	Bacteriological Analytical Manual (BAM),
E	Experimento
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
EUA	Estados Unidos da América
HE	Hektoen
Ig	Imunoglobulinas
LIA	Lisina Iron Agar
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
MC	MacConkey
MSRV	Rappaport Vassiliadis Modificado
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCR	Reação em cadeia de polimerase
PNSA	Programa Nacional de Sanidade Avícola
RV	Rappaport-Vassiliadis
SARP	Soro Aglutinação Rápida em Placas
SC	Selenito Cistina
SIM	Sulphide Indol Motility

SS	Salmonella-Shigella
T	Tetracionato
TSI	Triple Sugar Iron
USP	Universidade de São Paulo
VB	Verde Brilhante
XLD	Xilose Lactose Desoxicolato

## 1 INTRODUÇÃO

As infecções alimentares têm sido reconhecidas como um problema de saúde pública. Dentre essas infecções destaca-se a salmonelose, uma das zoonoses de maior prevalência nos países desenvolvidos e em desenvolvimento.

A salmonelose, causada por microrganismos do gênero *Salmonella*, é considerada uma das enfermidades mais problemáticas para a saúde pública pela elevada endemicidade, alta morbidade e, acima de tudo, pela dificuldade no controle, resultado do extraordinário número de possíveis fontes de infecção, envolvendo praticamente todo o escalão filogenético dos vertebrados, alguns dos quais fonte de proteína animal para o homem (HOFER & REIS, 1994).

O Brasil é consolidado pela alta produtividade da atividade agropecuária, dentro da qual a avicultura vem se destacando no cenário internacional. Qualidade e baixos custos são fatores que colocam o Brasil como terceiro maior produtor e segundo maior exportador de frangos do mundo (CHERNAKI-LEFFER *et al.*, 2002). A produção mundial de carne de frango, segundo o United States Department of Agriculture (USDA), registrou em 2006 um aumento de 3,25 %, passando de 58,2 para 60,09 milhões de toneladas. A produção do Brasil em 2006 foi de 9,3 milhões de toneladas, resultado que manteve o país no terceiro lugar entre os maiores produtores mundiais, atrás somente dos Estados Unidos e China, que apresentaram produção de 16,16 e 10,35 milhões de toneladas respectivamente (ABEF, 2006).

Apesar de toda ênfase dada na atualidade ao problema das salmoneloses no mundo (TAUXE, 1991), ainda assim, em nosso meio são muito exíguas as informações que detalham a ocorrência de sorotipos de *Salmonella* em aves, em diferentes situações clínica e epidemiológica (HOFER, 1985).

A expansão da indústria avícola melhorou a oferta de alimentos de origem animal em todo o mundo, porém alguns fatores inerentes ao desenvolvimento tecnológico - como o incremento da incubação artificial que requer temperatura, aeração e umidade adequadas ao desenvolvimento embrionário - favorecem a multiplicação de microrganismos, assim como o aumento e a concentração

populacional de aves podem desencadear condições propícias à infecção, instalação e à propagação de agentes patogênicos. Dessa forma, as salmonelas encontram na avicultura plenas condições de desenvolvimento, caso não haja um controle adequado.

A microbiota das aves encontra-se principalmente no trato digestório, em sua superfície externa (penas, espaços interdigitais, tegumentos cutâneos) e, em menor grau, no aparelho respiratório. Dessa forma, microrganismos como *Salmonella* spp., *Campylobacter jejuni* e *Listeria monocitogens*, podem estar presentes, representando um risco potencial à saúde do consumidor. A *Salmonella* é responsável com o *Campylobacter* pelas principais infecções de origem alimentarem quase todos os países Europeus (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY, 2006).

A análise epidemiológica das doenças infecciosas está sedimentada em alguns parâmetros constituintes da história natural das ocorrências. Assim, um dos aspectos fundamentais do problema reside no isolamento e identificação do agente etiológico (HOFER *et al.*, 1997).

Particularizando as salmoneloses aviárias, essa condição propicia, em primeiro plano, o conhecimento da incidência e/ou prevalência dos sorotipos de *Salmonella* spp., possibilitando, posteriormente, estabelecer confrontos de suas freqüências em diversas regiões, bem como o rastreamento dos sorotipos predominantes, visando à implantação de medidas preventivas ou de controle (SNOEYENBOS & WILLIAMS, 1991).

Os produtos avícolas são freqüentes veículos na transmissão de *Salmonella* spp., dominando outros produtos alimentícios de origem animal, como potencial fonte de infecção. Dessa forma, as aves têm sido consideradas como importante fonte de disseminação das bactérias intestinais para o meio ambiente e, deste, para o homem. A contaminação dos produtos avícolas (carnes e ovos) para o consumo humano pode ocorrer através das infecções intestinais e sistêmicas das aves; durante o abate e o processamento; devido ao contato com superfícies contaminadas; por meio das mãos dos manipuladores e da contaminação cruzada durante o preparo dos alimentos.

Apesar das medidas de biossegurança empregadas na indústria avícola e do rígido controle da salmonelose, principalmente em granjas de matrizes com o sacrifício das aves infectadas, essa enfermidade ainda continua sendo responsável por grandes perdas econômicas para a avicultura, por causar não só severos quadros de enterites e queda na produção, mas também freqüentes problemas de saúde pública.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Histórico

Em 1880, foram identificadas as primeiras bactérias do gênero *Salmonella*, até então conhecida como *Bacterium typhosa*, isolada de baço e linfonodos de seres humanos, sendo a primeira a ser reconhecida como patógeno por Eberth (CORREA & CORREA, 1992).

Em 1885, o veterinário, do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos da América (EUA), Dr. Daniel E. Salmon, isolou um bacilo de suínos doentes, que erroneamente foi designado como o agente da peste suína, sendo posteriormente denominado de *Bacillus cholerae suis*.

Gartner, em 1888, isolou uma bactéria de humano morto por gastroenterite, que havia comido carne crua de uma vaca doente. Mais tarde, essa bactéria foi denominada *Bacillus enteritidis*, e em 1900, Lignières propôs o nome genérico *Salmonella*, em homenagem ao Dr. Salmon (MERCHANT & PACKER, 1980).

A primeira descrição documentada de salmonelose em aves foi realizada em 1885, em pombos, e somente entre os anos de 1920 e 1930 é que foram descritos os primeiros surtos em galinhas e perus (SILVA, 1991).

A caracterização das bactérias do gênero *Salmonella*, no início do século XX, era bastante confusa e, a partir de 1925, devido à utilização de provas sorológicas, foram descritos aproximadamente 900 sorotipos de *Salmonella*, classificados através da terminologia de White, o que deu origem ao esquema de Kauffmann-White, o qual foi reconhecido a partir de 1932 (CORREA & CORREA, 1992).

## 2.2 Etiologia

A salmonelose é causada por microrganismos do gênero *Salmonella* pertencente à família *Enterobacteriaceae* que compreende aproximadamente 2.500 sorotipos (BARROW, 1999), os quais são capazes de causar enfermidades no homem e em várias espécies animais, sendo freqüentemente encontradas em aves e perus (BEZERRA, 1995).

O gênero *Salmonella* foi objeto de sucessivas modificações no que diz respeito a sua nomenclatura e taxonomia. Por isso, segue-se usando muitos dos métodos descritos e desenvolvidos por EDWARDS & EWING (1972), na década de 40, quando definiram e identificaram as primeiras cepas do gênero *Salmonella* e de outros membros da família *Enterobacteriaceae* (CAFFER & TERRAGNO, 2001).

Atualmente, a Organização Mundial de Saúde (OMS), através do Centro de Referência e Pesquisa de *Salmonella*, mediante estudos de DNA (CAFFER & TERRAGNO, 2001), recomenda uma nomenclatura que reflète os recentes avanços da taxonomia do gênero, consistindo de duas espécies: *Salmonella enterica*, classificada em seis subespécies (*enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica*), e *Salmonella bongori*. Os nomes foram mantidos somente para os sorotipos da subespécie *enterica*, que devem ser escritos com a primeira letra maiúscula e não devem ser de forma itálica (POPOFF & LE MINOR, 1997), dado que os sorotipos não têm nível taxonômico de espécie seus nomes escapam ao domínio do “Código Internacional de Nomenclatura Bacteriana” como exemplo:

*Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorotipo Typhimurium, a fins práticos *Salmonella* Typhimurium (CAFFER & TERRAGNO, 2001).

A maioria (99,8 %) dos sorotipos de *Salmonella* spp. isolada do homem e dos animais de sangue quente pertence à subespécie *enterica* e recebe geralmente um nome relacionado com o lugar geográfico onde foi isolada pela primeira vez (CAFFER & TERRAGNO, 2001).

Rotineiramente, para classificação da *Salmonella*, utiliza-se o esquema de Kauffmann-White, que divide o gênero em tipos sorológicos (sorotipos ou sorovares), tendo por base a composição antigênica das salmonelas, com relação aos seus antígenos de superfície que são: os somáticos (O), designados por números arábicos; os flagelares (H), designados por letras minúsculas e por números arábicos; e os capsulares, também chamados antígenos do envoltório (Vi), com apenas um tipo imunológico encontrado na *Salmonella* Typhi, *Salmonella* Dublin e *Salmonella* Hirschfeldii (FRANCO & LANDGRAF, 1996; CAMPOS, 2002).

As três estruturas antigênicas principais das superfícies bacterianas são: a parede celular; a cápsula e os flagelos. A parede celular de organismos Gram-negativos é uma estrutura polissacarídica-lipídica-proteica; os antígenos da parede celular são tóxicos (endotoxinas) e coletivamente classificados como antígeno O; e os flagelos bacterianos consistem de proteínas sendo totalmente antigênicos e conhecidos como antígeno H (TIZARD, 1985).

Os microrganismos pertencentes ao gênero *Salmonella* são bacilos curtos, medindo de 0,7-1,5  $\mu\text{m}$  de largura X 2-5  $\mu\text{m}$  de comprimento, Gram negativos, aeróbios e anaeróbios facultativos, não esporulados e móveis através de flagelos peritríquios, embora existam alguns imóveis; produzem gás a partir da glicose (exceto a *Salmonella* Typhi); e são capazes de utilizar o citrato como a única fonte de carbono (FRANCO & LANDGRAF, 1996). As colônias crescem bem em meios de cultura para enterobactérias, à temperatura de 37°C e pH em torno de sete; medem de 2-4 mm de diâmetro; são arredondadas com bordas lisas, um pouco elevadas e brilhantes (HOLT, 1994).

Dentre os sorotipos de *Salmonella* causadores de grande impacto na avicultura, destacam-se as salmonelas específicas das aves: *Salmonella enterica*

sorovar Pullorum e *Salmonella enterica* sorovar Gallinarum, agentes da pulorose e do tifo aviário, respectivamente, que provocam prejuízos à avicultura de muitos países. O tifo aviário está sob controle em granjas avícolas de países desenvolvidos, mas ainda subsiste endemicamente em algumas granjas de postura comercial da América Latina (CHACANA & TERZOLO, 2003).

Dentre as salmonelas paratifóides, destacam-se: *Salmonella enterica* sorovar Enteritidis; *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium; *Salmonella enterica* sorovar Infantis e *Salmonella enterica* sorovar Agona, causadoras de infecções alimentares e de grande importância em saúde pública (BERCHIERI JÚNIOR, 1999; GAMA, 2001). Os sorotipos do grupo paratifóide não estão relacionados com enfermidades específicas, mas são potencialmente capazes de infectar, indistintamente, diversos animais e o próprio homem (LAX *et al.*, 1995).

### 2.3 Patogenia

Para o desenvolvimento de uma enfermidade bacteriana é necessário que a bactéria se localize em ambiente adequado para o seu estabelecimento, replicação e expressão dos seus fatores de virulência (OCHOA & RODRIGUEZ, 2005).

Dentre dos passos que se apresentam no processo infeccioso se podem mencionar: adesão, invasão, replicação, resistência aos mecanismos de defesa e dano ao hospedeiro.

A sobrevivência do microrganismo em um local determinado depende da sua habilidade para aderir-se. As adesinas das bactérias têm uma estrutura que permite reconhecer moléculas presentes nas células dos hospedeiros chamadas receptores, com uma estereoquímica específica. Essa união determina os hospedeiros e o organotropismo das bactérias, além disso, as adesinas têm a capacidade de ativar os linfócitos B e neutrófilos, resultando em uma variedade de respostas biológicas incluindo proliferação celular e secreção de citocinas (HULTGREN *et al.*, 1996; EDWARDS & PUENTE, 1998).

Nas bactérias, podemos encontrar uma ampla variedade de adesinas, as quais estão divididas em dois grandes grupos: adesinas fimbriais e afimbriais, geralmente as adesinas das bactérias Gram negativas são: fímbria, fibrila, flagelo, lipopolissacarídeo (LPS) e cápsula (OCHOA & RODRIGUEZ, 2005). É comum o isolamento de uma bactéria que expresse múltiplos tipos de fímbrias com diferente especificidade de união (LOW *et al.*, 1996; SOTO & HULTGREN, 1999; TOWNSEND *et al.*, 2001).

Depois de entrar no hospedeiro, a bactéria pode aderir-se diretamente à célula hospedeira ou à matriz extracelular. Quando o tecido está lesado a matriz extracelular subjacente é exposta. Após a ingestão de água e alimento contaminado, a *Salmonella* inicia seu ciclo de infecção invadindo o hospedeiro através do tecido linfóide, incluindo as placas de Peyer e tonsilas cecais nas aves, aderem-se apicalmente as células epiteliais do íleo e as células M que devido a ausência de borda assim como de glicocálix representam uma porta de entrada ideal para as enterobactérias (JENSEN *et al.*, 1998; JEPSON & CLARK, 1998; ZHANG-BARBER *et al.*, 1999).

A *Salmonella* spp. invade as células do hospedeiro através de um mecanismo conhecido como disparo (*trigger*). A bactéria envia sinais às células epiteliais que induzem recargas do citoesqueleto dando lugar a formação de ondulações (*ruffling*) em sua superfície, como resposta ao contato. (FINLAY & COSSART, 1997; GOOSNEY *et al.*, 1999).

A *Salmonella* spp. pode invadir várias linhas celulares e estimular mais de um caminho de transdução de sinais para promover sua entrada nas células do hospedeiro. Os mecanismos de patogenicidade com que a *Salmonella* induz diarreia e septicemia não têm sido descritos detalhadamente, porém parece ser um fenômeno complexo que envolve diversos fatores de virulência.

A *Salmonella* produz efeitos citotóxicos que resultam na destruição das células M e na invasão de enterócitos adjacentes tanto pelo lado apical como basolateral, induz apoptose de macrófagos ativado mediante a proteína efetora SipB (*Salmonella* invasion protein) e fagocitose induzida nos macrófagos não ativado, para poder ser transportada ao fígado e baço (CHEN *et al.*, 1996; COTTER & DIRITA, 2000; MONACK *et al.*, 2000).

A patogenicidade das salmonelas, ou seja, o estabelecimento dos sintomas de salmonelose, bem como a sua gravidade, varia de acordo com o sorotipo de *Salmonella* spp. envolvido e com a competência dos sistemas de defesa específicos e inespecíficos do indivíduo afetado (FRANCO & LANDGRAF, 1996; CAMPOS, 2002). Estudos recentes mostraram que a resposta do hospedeiro à infecção por *Salmonella* spp. é complexa e envolve alguns aspectos de imunidade mediada por célula (BABU *et al.*, 2003; 2004).

O trato digestório das aves, principalmente das adultas, apresenta uma série de barreiras à instalação de salmonelas, como a acidez do papo e proventrículo, enzimas digestivas do pâncreas e bile, exclusão competitiva promovida especialmente por bactérias anaeróbias constituintes do trato digestório normal das aves e as imunoglobulinas (Ig). Apesar de todas essas barreiras, as bactérias conseguem instalar-se no trato digestório das aves aderindo-se firmemente a receptores da mucosa intestinal (CREAVEN & 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).

A ingestão oral de *Salmonella* spp. resulta na colonização intestinal (especialmente no ceco) e excreção do patógeno nas fezes. A frequência e a duração da colonização intestinal nos lotes de aves são influenciadas pela idade, linhagem genética, *status* imunitário, amostra e dose de *Salmonella* spp. aos quais eles foram expostos (GAST *et al.*, 2005). SEO *et al.* (2002) mostraram que galinhas infectadas com *Salmonella* Enteritidis, por via oral, produzem IgA secretoras que especificamente se unem a numerosos antígenos desse sorotipo de *Salmonella*. As aves infectadas com *Salmonella* Enteritidis mostraram uma forte resposta de IgA secretora contra os flagelos tanto no papo como na bÍlis.

A infecção de pintos, muito cedo, na incubadora, com *Salmonella* Enteritidis, por inoculação oral ou contato horizontal, pode levar ao estabelecimento de colonização intestinal que persiste no adulto (GAST & HOLT, 1998; NAKAMURA *et al.*, 1993; PHILIPS & OPITZ, 1995). A introdução de grande quantidade de penugem e pó, gerada durante o processo de incubação nas máquinas nascedouras, tem sido apontada como uma das principais fontes de contaminação de pintos por *Salmonella* spp. (BAILEY *et al.*, 1992). O pó gerado durante o

processo de incubação tem sido fortemente implicado com transmissão de *Salmonella* spp. porque dificulta os processos de limpeza e desinfecção dos nascedouros (MITCHELL *et al.*, 2002). COX *et al.* (1990) demonstraram que fragmento da casca do ovo nos nascedouros também é uma fonte de contaminação por *Salmonella* spp.

Poedeiras maduras, quando são infectadas com *Salmonella* spp., sempre o são com doses muito elevadas, resultando numa freqüência de colonização intestinal com tendência a declinar muito mais abruptamente do que quando infectadas muito jovens (GAST *et al.*, 2004). Algumas vezes, porém, tal infecção pode persistir por vários meses (GAST & BEARD, 1990). LEACH *et al.* (1999) mostraram que a *Salmonella* Typhimurium, quando inoculada por via aérea, pode ser transmitida aos ovos 15 vezes mais eficientemente do que quando inoculada por via oral.

As amostras de *Salmonella* spp. não têm apresentado diferenças significativas nas suas habilidades para persistir no trato intestinal, mas a pressão seletiva aplicada pela passagem *in vivo* nas galinhas influencia outros parâmetros da infecção por *Salmonella* Enteritidis, como a habilidade para causar contaminação do ovo (GAST *et al.*, 2003).

Existem várias vias através das quais a ave torna-se infectada por bactérias do gênero *Salmonella* spp. Geralmente, a infecção dá-se pela via digestória, especialmente através da alimentação (STACCHINI *et al.*, 1993), mas é possível a infecção através da via respiratória (TANNOCK & SMITH, 1971) e, além disso, o fluxo de ar pode influenciar a maior ou menor disseminação de *Salmonella* spp. no ambiente (NAKAMURA *et al.*, 1997). Segundo COX *et al.* (1996), aves jovens podem ser infectadas por *Salmonella* spp. através das vias oral, nasal, conjuntival, cloacal e umbilical.

A *Salmonella* spp. invade rapidamente os tecidos do hospedeiro, sendo o intestino o órgão de predileção, onde a bactéria instala-se e reproduz-se. Se o agente, porém, ingressar em capilares sanguíneos, poderá ocorrer a forma sistêmica e lesões hepáticas podem ser observadas, como o aumento do volume do órgão e formação dos nódulos paratíficos, bem como pneumonia lobular grave (POPIEL & TUMBULL, 1985; SATO *et al.*, 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, ocorrendo, dessa forma, sobrevivência intracelular (KATTOM *et al.*, 1995) e o poder de penetrar nas células intestinais, colonizar e viver *in situ* podendo ir para o tecido subepitelial através da destruição das microvilosidades (PORTER & CURTISS, 1997).

Os macrófagos são os maiores efetores contra infecção por *Salmonella* spp. e também transportam a bactéria entre os tecidos do hospedeiro (VASQUEZ-TORRES *et al.*, 1999), incluindo o trato reprodutivo da galinha (OKAMURA *et al.*, 2001), e suprem um sítio protegido para replicação bacteriana intracelular (RICHTER-DAHLFORS *et al.*, 1997).

As bactérias se aderem à mucosa através de polissacarídeos (moléculas de açúcares ramificadas), que se estendem da parede externa da bactéria formando uma estrutura, denominada glicocálix ou fímbria, que envolve a célula ou mesmo uma colônia de bactérias. Tal aderência à mucosa intestinal parece ser o mecanismo chave tanto para a colonização das bactérias patogênicas quanto para os efeitos nocivos sobre a saúde do animal (MACARI & MAIORKA, 2000). De acordo com KRAMER *et al.* (2003), a aderência e a entrada da *Salmonella* spp. na célula eucariótica é um processo passivo ou induzido ativamente pela própria bactéria. Estudos *in vitro* mostram que, a *Salmonella* spp. induz o seu engolfamento, pela célula epitelial, em um processo ativo que requer gasto de energia pela célula hospedeira (CAMPOS, 2002).

A *Salmonella* spp. é uma bactéria invasora e pode localizar-se no ovário das aves (TURNBULL & SNOEYENBOS, 1974; TURNBULL & RICHMOND, 1978), sendo transmitida aos ovos de forma vertical (via ovo) (METHNER *et al.*, 1995) e/ou horizontal, ocorrência freqüente na contaminação de ovos.

Um ovo fertilizado contém um embrião em fase inicial de desenvolvimento, protegido pela casca, sendo esta, portanto, a principal linha de defesa do blastoderme contra o desafio do meio ambiente (GONZALES & CAFÉ, 2003).

A *Salmonella* spp. presente nas fezes pode penetrar no ovo antes do estabelecimento da barreira cuticular proteica da sua superfície, a qual é considerada a primeira barreira de prevenção contra a invasão bacteriana. Assim, o agente localizado na vagina se adere à casca, ultrapassando-a e contaminando o conteúdo interno do ovo (MIYAMOTO *et al.*, 1997). Segundo SNOEYENBOS *et al.* (1991 apud POPPE *et al.*, 1998) a transmissão vertical da infecção dos ovários para os ovos é chamada de infecção transovariana ou transmissão transovariana.

Os ovos contaminam-se também após a formação da casca, durante a passagem do ovo pela cloaca ou pelo contato com as fezes na cama, no material de ninho, mãos do tratador, água, bandejas, cama, piso ou em qualquer local contaminado, inclusive incubatórios, caracterizando-se a transmissão horizontal (HUMPHREY, 1994; MIYAMOTO *et al.*, 1997; COX *et al.*, 2000; GUSTIN, 2003, PATRICIO, 2003).

BARROW & LOVELL (1991) afirmaram que a maioria dos ovos contaminados por *Salmonella* Enteritidis, produzida por aves infectadas, estava contaminada na sua superfície e não resultou de uma infecção ovárica. A deposição de *Salmonella* Enteritidis no interior dos ovos aparentemente é uma consequência da colonização do tecido reprodutivo em poedeiras infectadas sistemicamente (KELLER *et al.*, 1995; MIYAMOTO *et al.*, 1997; OKAMURA *et al.*, 2001).

A *Salmonella* Enteritidis, particularmente, fagotipo 4 tem uma afinidade particular com o trato reprodutivo das galinhas, é mais hábil para causar colonização por longo período no trato reprodutivo, sendo depositada com os ovos mais do que outros sorotipos invasores (BERCHIERI JÚNIOR *et al.*, 2001; OKAMURA *et al.*, 2001; AMY *et al.*, 2004; GUARD-BOULDIN *et al.*, 2004). Poedeiras infectadas naturalmente ou experimentalmente por *Salmonella* Enteritidis podem produzir ovos contaminados internamente (GAST & BEARD, 1990; GAST & HOLT, 2000; HUMPHREY *et al.*, 1991). Contudo, a produção de ovos contaminados por *Salmonella* Enteritidis em lotes infectados é extremamente baixa (MASON, 1994).

GAST & HOLT (1998) estudando a persistência de *Salmonella* Enteritidis em poedeiras infectadas, experimentalmente, de um dia de idade até a maturidade isolaram *Salmonella* Enteritidis em 100 % das aves após uma semana no fígado, baço e cecos e a colonização persistiu até quatro semanas após inoculação

somente nos cecos. Inicialmente, metade das poedeiras eliminou *Salmonella* Enteritidis, nas fezes, até 24 semanas de idade, mas somente uma poedeira produziu ovo internamente contaminado, durante o início da produção, de quatro até seis semanas. Dessa forma, galinhas expostas a *Salmonella* Enteritidis, logo após seu nascimento, podem permanecer infectadas até a maturidade; produzir ovos contaminados; e/ou disseminar a infecção a outras aves susceptíveis.

Nas aves infectadas, as lesões macroscópicas que podem ser observadas na necropsia são: pele flácida com sinais de desidratação, saco da gema coagulado ou não absorvido, congestão do fígado e do baço com 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 (FERREIRA *et al.*, 1990; BERCHIERI JÚNIOR, 1991; SILVA, 1991; BERCHIERI JÚNIOR & BARROW, 1995; NAVARRO, 1995; SILVA, 1996).

Segundo GAST & BEARD (1991), galinhas infectadas com *Salmonella* Enteritidis desenvolvem uma resposta imune inicialmente aos nove dias após inoculação no soro e 14 dias, no ovo.

A salmonelose tem um período de incubação de 6 a 72 horas, geralmente entre 12 a 36 horas e a gastroenterite persiste de 24 a 72 horas. A dose infectante é de  $10^5$  a  $10^8$  microrganismos (CAFFER & TERRAGNO, 2001).

## 2.4 Epidemiologia

As salmonelas são amplamente distribuídas na natureza, sendo o trato intestinal do homem e dos animais o principal reservatório natural. Entre os animais, as aves (galinhas, perus, patos, gansos) são os reservatórios mais importantes, porque podem ser portadores assintomáticos, excretando continuamente *Salmonella* spp. nas fezes. Os suínos, bovinos, eqüinos e animais silvestres (roedores, anfíbios e répteis) também apresentam salmonelose e os animais domésticos (cães, gatos,

pássaros) podem ser portadores de *Salmonella* spp. (FRANCO & LANDGRAF, 1996).

Apesar de numerosos levantamentos mostrarem aves selvagens infectadas por *Salmonella* spp. em várias partes do mundo, a incidência tem sido bem menor do que em aves domésticas (STEELE & GALTON, 1971). Alguns sorotipos de *Salmonella* spp. têm um reservatório animal específico. Dessa forma, sua transmissão está vinculada a alimentos obtidos desses animais (BAÚ *et al.*, 2001).

Do ponto de vista epidemiológico, a *Salmonella* spp. pode ser classificada em três grupos: as que não têm preferência por algum hospedeiro em especial, podendo infectar o homem e os animais; as que infectam só o homem (*Salmonella* Typhi, *Salmonella* Paratyphi A e *Salmonella* Paratyphi C) e que se transmitem de forma direta ou indireta de uma pessoa para outra; as que estão adaptadas a um hospedeiro em espécie animal: *Salmonella* Abortusovis (ovinos), *Salmonella* Abortusequi (eqüinos) e *Salmonella* Gallinarum (aves) (CAFFER & TERRAGNO, 2001).

CARVALHO *et al.* (2001) afirmam que as fezes podem constituir o fator principal na instalação e/ou disseminação de *Campylobacter* e *Salmonella* dentro de um galpão e que suas camas podem atuar na transmissão e (ou) manutenção desses microrganismos no plantel. O *Campylobacter* e *Salmonella* são agentes conhecidos como causadores de gastroenterite bacteriana aguda em humanos e os produtos avícolas crus têm sido implicados como uma fonte importante dessas infecções (COX *et al.*, 2005).

Nos países em desenvolvimento, existem poucos dados acerca da participação dos alimentos de origem animal na epidemiologia da salmonelose humana, contrastando com os países desenvolvidos, onde eficientes pesquisas etiológicas são realizadas (LÁZARO *et al.*, 1997). Produtos avícolas, especialmente ovos crus e mal cozidos, têm sido o maior fator de risco para infecção humana com *Salmonella* Enteritidis (PALMER *et al.*, 2000; CDC 2004; DE BUCK *et al.*, 2004).

A epidemiologia das infecções por *Salmonella* spp. em aves é bastante complexa (HINTON, 1988), sendo difícil determinar como um lote foi infectado ou

como ocorre a disseminação bacteriana no plantel. A persistência de *Salmonella* spp. no ambiente é uma importante característica na sua epidemiologia (WRAY, 1975; GUARD-PETTER, 2001). A *Salmonella* Enteritidis pode infectar um lote de aves e invadir lotes vizinhos sem apresentar nenhum sinal da doença. Essa infecção inaparente não se limita ao intestino, estendendo-se também aos órgãos internos, incluindo o sistema reprodutivo, com conseqüente contaminação da progênie ou de ovos comerciais para consumo humano (PEREIRA *et al.*, 1999).

Segundo KAMPELMACHER (1987), as três maiores fontes de salmonelas para aves de interesse comercial são a introdução de lote contaminado, o ambiente e a ração contaminada.

As salmonelas podem infectar as aves através das vias vertical e horizontal. Quando o trato intestinal da ave está colonizado por *Salmonella* spp., o ovo produzido pode ser contaminado durante a passagem pela cloaca e, em poucos minutos, a *Salmonella* spp. é capaz de penetrar através da casca do ovo. Dessa forma a porosidade, espessura da casca, rachaduras e trincas na casca do ovo favorecem ainda mais a penetração bacteriana no ovo (NASCIMENTO *et al.*, 1998; SONCINI & BITTENCOURT, 2003), visto que essa penetração pode resultar em transmissão direta das bactérias para o embrião durante o desenvolvimento, ou pode expor os outros pintainhos à infecção por *Salmonella* spp. quando a casca é rompida durante o nascimento (GAST, 1997).

Pela via vertical, o ovo pode ser contaminado desde a sua formação (ovário e oviduto). Nesse caso, a contaminação está localizada na gema e os processos convencionais de desinfecção dos ovos não são eficientes, assim como na cloaca pelo contato com as fezes. A clara, em geral, apresenta-se com baixa contaminação por salmonelas, pois ela contém elementos naturais que dificultam o desenvolvimento bacteriano, como a presença de enzimas antibacterianas (lisozima) e a deficiência de ferro, elemento essencial para a multiplicação bacteriana. Contudo, a manipulação da clara no preparo de determinados pratos pode romper esse equilíbrio e favorecer a multiplicação de salmonelas (SILVA & OLIVEIRA, 2000).

SNOEYENBOS (1971) destacou que a transmissão de salmonela em ovos férteis ocorre com freqüência suficiente para que seja necessária a adoção de

medidas de controle nas granjas de avós e matrizes. Foi estabelecido que, por contaminação vertical, a presença de salmonela em uma matriz pode afetar até 65 frangos (WILDING & BAXTER-JONES, 1984), mas a produção de ovos positivos em lotes contaminados por *Salmonella* Enteritidis é extremamente baixa (MASON, 1994).

Outro aspecto epidemiológico de suma importância reside nas flutuações dos sorotipos dominantes numa região, quase sempre retratando primariamente esse acontecimento nas aves com projeções futuras para outras fontes de infecções como, por exemplo, *Salmonella* Agona, *Salmonella* Saint Paul, *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Hadar e na atualidade, *Salmonella* Enteritidis (HOFER *et al.*, 1997).

Muitas amostras de salmonela podem sobreviver por longos períodos de tempo na água e em materiais secos como poeira. Elevado número de microrganismos sobrevive no ambiente, em estado adormecido, podendo multiplicar-se rapidamente se houver condições favoráveis. Essa habilidade especial, junto com a contribuição de vetores de vida livre, representa um problema real para o controle das salmonelose no ambiente avícola (LIEBANA *et al.*, 2003).

GAST *et al.* (2002), analisando as características da contaminação em ovos por *Salmonella* Enteritidis, através de várias vias, afirmaram que, independente da via de contaminação, a *Salmonella* Enteritidis foi isolada com maior frequência da gema (4 % a 7 %) do que do albúmen (0 % a 2 %) dos ovos examinados.

Entre os prováveis meios de contaminação dos ovos estão as galinhas poedeiras, que atuam como portadoras, onde o patógeno se desenvolve no folículo ovariano, propiciando a postura de ovos contaminados (THIAGARAJAN *et al.*, 1994).

GAST & HOLT (2001) e GAST *et al.* (2002) observaram que, mesmo após a administração de elevadas doses de *Salmonella* Enteritidis, em galinhas poedeiras, a incidência de ovos contaminados é relativamente baixa. As fezes são importante fonte de contaminação do alimento, contudo a excreção de *Salmonella* spp. nas fezes não é contínua. Dessa forma, é possível se obterem baixos níveis de ovos contaminados, na casca ou no seu conteúdo, por *Salmonella* spp. (HUMPHREY *et al.*, 1989). De acordo com EBEL & SCHLOSSER (2000), a

prevalência de *Salmonella* spp. em ovos naturalmente infectados nos EUA foi estimada em 0.005%.

A identificação de ovos positivos para *Salmonella* Enteritidis, até mesmo oriundos de um lote de poedeira infectado, é particularmente desafiante porque nem todas as poedeiras infectadas com *Salmonella* Enteritidis põem ovos infectados. Se tais poedeiras eliminam ovos infectados, o microrganismo é eliminado intermitentemente (GAST & HOLT, 2000; KELLER *et al.*, 1995; KINDE *et al.*, 2000).

Outra forma importante de contaminação é o contato das cascas dos ovos com as fezes das aves, no momento da postura ou no ninho, além da questão do manuseio sob condições inadequadas (MORRIS, 1990). GAST & HOLT (2000) e HUMPHREY *et al.* (1991) afirmaram que o sítio de deposição da *Salmonella* Enteritidis em ovos (gema ou albúmen) pode ser determinado pela região de colonização do trato reprodutivo da poedeira.

Recentemente, os centros para o controle e prevenção de enfermidades têm reportado que existe uma associação significativa entre os ovos e os alimentos que contêm ovos e a infecção por *Salmonella* Heidelberg em humanos. GAST *et al.* (2004) comprovaram que cepas de *Salmonella* Heidelberg, isoladas a partir de amostras tomadas em surtos de enfermidade associadas ao consumo de ovos em humano, eram capazes de colonizar o trato reprodutivo e ser transmitidas aos ovos em aves infectadas experimentalmente, como se tem reportado sobre *Salmonella* Enteritidis.

A via horizontal tem como fonte de infecção: a ração e suas matérias primas; aves estranhas à criação; animais de estimação; veículos e seres humanos. A disseminação ocorre através das fezes, contaminando água, ração, cama, mosquitos e besouros, pó do galpão, ovos e roedores (BERCHIERI JÚNIOR, 1999).

COX *et al.* (1990) mostraram que 75 % das amostras de fragmentos dos ovos, "pool" de material e de papel em incubadoras comerciais continham *Salmonella* spp., indicando muitas oportunidades para a contaminação de ovos recém incubados.

A contaminação externa da casca de um ovo íntegro pode resultar no estabelecimento da infecção no pinto durante a incubação. A contaminação

horizontal dentro de incubadoras também é freqüente (BAILEY *et al.*, 1994; CASON *et al.*, 1994), ocorrendo contaminação externa da casca e, conseqüentemente, penetração da bactéria através dos poros dos ovos. Nas incubadoras, ovos contaminados, especialmente aqueles contendo gás formado pela bactéria, explodirão resultando na contaminação de outros ovos (ROY *et al.*, 2002).

Penugem contaminada pode infectar embriões na incubadora, ocorrendo mais freqüentemente durante o processo de incubação e transporte dos pintos para a granja. Na transmissão horizontal de *Salmonella* Enteritidis, pintos livres, em contato com pintos inoculados, se infectam, e entre 12 a 24 horas após o contato, eliminam *Salmonella* Enteritidis pelas fezes (GAST & HOLT, 1999; SONCINI *et al.*, 2000).

A muda forçada permanece como uma ferramenta importante no manejo da indústria de postura como uma maneira de maximizar a vida produtiva de um lote de poedeira comercial. Programas de muda envolvem estimativamente 75 % a 80 % dos lotes comerciais nos EUA e Japão, existindo vários procedimentos para induzir muda em poedeiras, sendo o método primário a remoção do alimento até a redução do peso corporal da poedeira a um certo percentual (USDA, 2000). Segundo BELL (2003), o método mais efetivo de regressão do ovário é a retirada do alimento por 10 a 14 dias.

Estudos experimentais mostraram que o processo de muda forçada produz depressão imunitária significativa nas poedeiras (HOLT, 1992; 1992a), que pode tornar os lotes vulneráveis à infecção por agentes infecciosos. Muitos pesquisadores relatam que a susceptibilidade para algumas doenças aumenta durante anorexia (WEBSTER, 2003). A *Salmonella* Enteritidis, em particular, foi estudada extensivamente com relação à infecção durante a muda. Poedeiras após muda eliminaram mais SE nas fezes (HOLT, 1993; HOLT, 1995; HOLT *et al.*, 1995; HOLT & PORTER JÚNIOR, 1992), tinham altos níveis de *Salmonella* Enteritidis nos órgãos internos (HOLT *et al.*, 1995), permaneceram infectadas por um longo período (HOLT, 1992; HOLT & PORTER JÚNIOR, 1992) e apresentaram mais patologia no trato intestinal do que as que não sofreram muda (HOLT & PORTER JÚNIOR, 1992; MACRI *et al.*, 1997; PORTER & HOLT, 1993).

WOODWARD *et al.* (2005) usando dieta com alfafa como método alternativo de muda forçada para redução da invasão e colonização por *Salmonella* Enteritidis observaram que a alfafa não aumentou a incidência de *Salmonella* Enteritidis nos ovos e nem nos órgãos internos.

HUANG *et al.* (2006) conduziram uma pesquisa para investigar os efeitos do tamanho (grossa e fina) e da forma (triturada e peletizada) do alimento sobre a sobrevivência da *Salmonella* Typhimurium, no trato alimentar e sobre a redução de *Salmonella* Typhimurium nos cecos de frangos em crescimento, e concluíram que, a dieta peletizada aumentou a incidência de *Salmonella* Typhimurium no conteúdo da moela e o tamanho da partícula da dieta não afetou a incidência de *Salmonella* em nenhum segmento do trato alimentar.

ROY *et al.* (2002) isolaram *Salmonella* spp. na água da lavagem de carcaças de frango e de galinhas de descarte, em carne de frango moída, dos pulmões de pintos de incubadoras procedentes de ovos de avós e matrizes, em suabes de arrasto dos galpões, em amostras de fígado e do conteúdo do saco da gema de pintos, mas a exata fonte da origem da contaminação de *Salmonella* Enteritidis ainda permanece desconhecida.

Segundo KINDE & ATWILL (2000), na Califórnia, foi hipotetizado que a infecção com *Salmonella* Enteritidis começava em humanos e que, conseqüentemente, os roedores se infectavam com efluentes contaminados provenientes de fonte humana, fazendo com que esta fosse postulada como a fonte de infecção das aves domésticas.

A transmissão da *Salmonella* Enteritidis na forma vertical e horizontal constitui um importante risco na saúde dos plantéis avícolas e em saúde pública (SANTOME *et al.*, 1999).

GAST *et al.* (2005) não encontraram correlação quando analisaram a duração da eliminação de *Salmonella* nas fezes com a freqüência de contaminação dos ovos produzidos em poedeiras comerciais infectadas com amostras de *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Heidelberg.

BUCHALA *et al.* (2006) pesquisaram a ocorrência de *Salmonella* spp. em propriedades avícolas não tecnificadas, com finalidade de subsistência, localizadas

em áreas próximas a granjas de reprodutoras do estado de São Paulo, através da SAR e SAL e encontraram freqüência igual a 73 % de propriedades com aves sororeagentes e 16,5 % de aves sororeagentes. Desta forma os dados obtidos sugerem que a *Salmonella* spp. está amplamente difundida nas criações informais de aves “fundo de quintal”, colocando em risco, constante, os criatórios de exploração industrial, os quais necessitam adotar boas práticas de biossegurança para preservar a integridade sanitária dos plantéis.

A associação da mosca doméstica como vetor mecânico de patógenos causadores de doenças gastrointestinais tem sido documentada em várias partes do mundo (BANJO *et al.*, 2005). Espécies de *Salmonella* spp. e outros patógenos têm sido reportados de moscas na Nigéria (DIPEOLU, 1977; ADEYEMI & DIPEOLU, 1984) e Malásia (SULEIMAN *et al.*, 2000). UGBOGU *et al.* (2006) pesquisando *Salmonella* spp. e *Shigella* em espécies de moscas domésticas (*Musca domestica* L.), em Uturu, Nigéria, em “pool” de 34 amostras, isolaram *Shigella* e *Salmonella* spp. em 100 % e 61,7 % das amostras, respectivamente, mostrando que ambientes sujos podem facilmente atrair moscas que subseqüentemente depositam organismos patogênicos no alimento e na água podendo causar infecções alimentares no homem.

A *Salmonella* spp. já foi isolada de *Alphitobius diaperinus* e sua presença é rotineiramente verificada na cama dos aviários através de pesquisa bacteriológica (CHERNAKI-LEFFER *et al.*, 2002). SKOV *et al.* (2004) estudando o papel dos pequenos besouros como potencial reservatório de *Salmonella* enterica e *Campylobacter* spp. entre lotes de frango, mostraram que os besouros podem estar positivos para os dois patógenos e funcionar como veículo transmissor.

HENZLER & OPTIZ (1992) e DAVIES & WRAY (1995) descreveram o importante papel do rato na disseminação e persistência de *Salmonella* Enteritidis em fazendas avícolas. LIEBANA *et al.* (2003) realizaram estudos moleculares para avaliar a contribuição de vetores de vida livre, na manutenção de infecção em granjas de poedeiras, por *Salmonella* Enteritidis, e concluíram que, em todas as granjas estudadas, foi isolada *Salmonella* tanto das amostras de populações de roedores residentes quanto do ambiente, sendo possível que a virulência da

*Salmonella* Enteritidis aumente em decorrência da seleção ou passagem na população de ratos (GUARD-PETTER *et al.*, 1997).

## 2.5 Saúde Pública

A toxinfecção alimentar causada por *Salmonella* spp. deve-se, principalmente, às trocas dos hábitos alimentares, à forma de comercialização dos produtos de origem animal e às deficiências notadas durante a produção, estocagem e distribuição desses produtos (CAFFER & EIGUER, 1994).

As infecções por *Salmonella* spp. em empresas avícolas comerciais são freqüentes em todas as áreas do mundo onde há uma investigação adequada (SNOEYENBOS, 1991).

A incidência real de salmonelas nas toxinfecções alimentares é desconhecida, uma vez que, freqüentemente, pequenos surtos não são relatados para as autoridades de Saúde Pública (LOGUERCIO *et al.*, 2002).

No início do século XX, os ovos de galinha raramente estavam envolvidos em surtos de toxinfecção alimentar em seres humanos, sendo menos importantes que carne bovina, suína, de ave, bem como leite não pasteurizado. Durante a segunda guerra mundial, aconteceram surtos devido ao consumo de ovo em pó e ovo pasteurizado importados, pelo fato de que a *Salmonella* spp. presente em alguns ovos multiplicou e disseminou durante o preparo e a estocagem dos produtos (DUGUID & NORTH, 1991).

BÄUMLER *et al.* (2000) observaram que o aumento nos casos de salmonelose em humanos ocorridos por volta de 1960, na Inglaterra e nos EUA, coincidia com o declínio de aves comerciais soropositivas para *Salmonella* Pullorum. Esses fatos sugerem que a eliminação de SP pode ter favorecido a colonização do trato digestório das aves por outros sorotipos.

A partir da década de 70, houve um grande aumento de casos de toxinfecção alimentar em seres humanos causados por *Salmonella* spp. (THORNE, 1991). Na década de 70, *Salmonella* Agona foi introduzida em granjas, através da

utilização de farinha de peixe oriunda do Peru, desencadeando um processo mundial de salmonelose em aves e em seres humanos, em decorrência da ingestão de produtos de origem avícola (CLARK & THATCHER, 1973). Posteriormente, *Salmonella* Agona passou a ser isolada, com certa frequência de componentes de ração para aves, de aves (BERCHIERI JÚNIOR, 2000; HOFER *et al.*, 1998) e, historicamente, tem estado entre os quatro sorotipos mais isolados de seres humanos no Brasil (TAVECHIO *et al.*, 1996).

Os casos de toxinfecções alimentares causados por *Salmonella* spp. aumentaram a partir da década de 80. RODRIGUE *et al.* (1990) atribuíram esse aumento ao consumo de ovos e subprodutos contaminados por *Salmonella* Enteritidis. Todavia, a presença de *Salmonella* spp. em carcaças de frangos não pode ser ignorada (RAMPLING *et al.*, 1989; BOER & ZEE, 1992; GIESSEN *et al.*, 1992; POPPE, 1994; COSTA, 1996; SCUDERI *et al.*, 1996).

Na década de 80, *Salmonella* Enteritidis, de forma rápida e astronômica, passou a ser a maior preocupação mundial referente aos casos de salmonelose humana (RODRIGUE *et al.*, 1990; TAUNAY *et al.*, 1996), decorrentes da ingestão de produtos alimentícios de origem animal ou de produtos preparados com componentes de origem animal.

Segundo o Centro de Controle de Doenças dos EUA, nos últimos anos, ocorreram, anualmente, 45.000 isolamentos de *Salmonella* spp., com 20.000 hospitalizações, 500 mortes, e com despesas de US\$ 500 milhões (GAMA, 2001). Esses surtos foram ocasionados, em sua maioria, por *Salmonella* Enteritidis, e investigações epidemiológicas identificaram o consumo de ovos ou de alimentos contendo ovos como responsáveis pela maioria dos surtos. Essas informações foram divulgadas, com grande alarde, pelos veículos de comunicação, causando grandes prejuízos aos produtores de ovos (SILVA & DUARTE, 2002).

Vários surtos têm sido reportados, sendo o ovo a fonte de infecção humana (BERGHOLD *et al.*, 2003; CRESPO *et al.*, 2005). Ovos crus, mal cozidos e carne de frango representam alto risco para os humanos (GILLESPIE *et al.*, 2005).

Anualmente ocorre 1,4 milhões de casos de salmonelose nos EUA sendo a *Salmonella* Newport o terceiro sorotipo mais isolado. De janeiro a abril de 2002, foi

isolado *Salmonella* Newport em 47 pessoas nos EUA e os sintomas apresentados foram diarreia (100 %), dor abdominal (91 %), febre (78 %) e vômito (48 %) (ZANSKY *et al.*, 2002).

No Brasil, entre 1994 e 1995, ocorreram surtos de salmonelose humana em vários Estados, com o número de pessoas afetadas variando de duas a 300 por caso (GELLI, 1995).

Segundo TAVECHIO *et al.* (2002), de um total de 4.581 isolamentos de *Salmonella* spp. realizados pelo Instituto Adolfo Lutz – SP - Brasil, entre 1996 e 2000, a *Salmonella* Enteritidis foi o sorovar predominante, correspondendo a 32,7 % dos isolados.

O Laboratório FIOCRUZ, nos anos 2002, 2003 e 2004 caracterizou a *Salmonella* Enteritidis como o sorotipo mais freqüente em aves, registrando maior ocorrência em 2004 (RODRIGUES, 2005).

A *Salmonella* spp. continua sendo uma causa proeminente de infecções de origem alimentícia em quase todos os países industrializados (ARCHER & KVENBERG, 1985; SOCKETT, 1991; TODD, 1991; D'AOUST, 1997). De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), a *Salmonella* Enteritidis parece estar aumentando no continente norte americano, sul americano, Europa e talvez na África (RODRIGUE *et al.*, 1990).

A salmonelose é uma zoonose e os sorotipos encontrados no homem são comumente os mesmos encontrados entre os animais. Os grandes surtos de salmonelose humana têm sido caracterizados como decorrentes do consumo de alimentos manipulados inadequadamente em restaurantes e cozinhas institucionais. A cocção inadequada dos alimentos, o resfriamento lento, a manutenção dos alimentos por muitas horas sem refrigeração e o reaquecimento insuficiente, antes de servi-los, também têm sido demonstrados como fatores que contribuem para o surgimento da doença no homem (COSTA, 1996).

A identificação de um surto de doença de origem alimentar é realizada através de inquérito epidemiológico conduzido entre os indivíduos que tenham, ou não, consumido o(s) alimento(s) suspeito(s), quer tenham apresentado os sintomas característicos, quer não e, também, através de exames laboratoriais em amostras

clínicas e nas amostras de alimentos. Em grande parte dos surtos de doença microbiana de origem alimentar, a identificação do alimento causador é inferida apenas com base no inquérito epidemiológico. Somente em alguns casos, foi possível a identificação do microrganismo patogênico no material clínico e nas amostras de alimento. Por o alimento suspeito não estar mais disponível para análise laboratorial, não é possível caracterizar o alimento suspeito; a análise laboratorial é limitada devido ao custo na investigação de todos os patógenos possíveis e às metodologias laboratoriais empregadas para o isolamento; também a identificação dos inúmeros patógenos não é 100% eficiente (FRANCO & LANDGRAF, 1996).

Em infecções humanas, as manifestações clínicas por salmonela variam de leves sinais intestinais à septicemia, com óbitos, em geral, restritos a recém-nascidos, idosos e pessoas imunocomprometidas. A diarreia é o principal sintoma e, na maioria dos casos, ocorre a cada 10-15 minutos, 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, náusea, vômito e dor de cabeça também podem manifestar-se (PELZER, 1989; SILVA, 1991).

Nos últimos anos, a carne de aves domésticas (HUMPHREY *et al.*, 1988; BOLDER *et al.*, 1991), principalmente frango mal cozido (PANISELLO *et al.*, 2000) e os ovos crus, insuficientemente cozidos (RODRIGUE *et al.*, 1990), ou pratos preparados com ovos (SPACKMAN, 1989; BARROW, 1993; NOORDHVIZEN & FRANKENA, 1994; TAUXE, 1997), como saladas e produtos de confeitaria (ALTEKRUSE *et al.*, 1997; ESTUPINAN *et al.*, 1998), parecem ser os maiores veiculadores de *Salmonella* spp. nas infecções alimentares humanas (BEZERRA, 1995; PERESI *et al.*, 1998).

OTOMO *et al.* (2007), pesquisando *Salmonella* em galinhas poedeiras e nos ovos associados com infecções transmitidas pelo alimento em 23 fazendas no Japão, encontraram 12 fazendas (52,2 %) contaminadas com *Salmonella* e os sorotipos *Salmonella* Enteritidis e Infantis foram detectados em quatro e três fazendas, respectivamente.

ERDOGRUL (2004) afirmou que o consumo de ovos crus ou com leve cocção (em mousse, maionese, drinques e outros alimentos) faz com que seja

necessária a incorporação de medidas de higiene e desinfecção, na tecnologia de produção de ovos frescos. Tanto os ovos como alimentos contendo ovos têm sido importantes fontes de *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium e *Salmonella* Heidelberg (ERDOGRULL *et al.*, 2002; HUMPHREY, 1994). A infecção alimentar humana por *Salmonella* spp. ocorre, geralmente, quando ovos contaminados são estocados e manipulados no preparo de alimentos, de forma a permitir a multiplicação do agente (GAST & BEARD, 1992; HOGUE *et al.*, 1997).

A contaminação dos ovos por *Salmonella* spp. ocorre, inicialmente e na maioria das vezes, através da casca. A porosidade, qualidade da cutícula, espessura da casca, rachadura e trincas favorecem a penetração bacteriana no ovo (SONCINI & BITTENCOURT, 2003). MESSENS *et al.* (2005), relataram que existem fatores extrínsecos e intrínsecos que podem afetar a penetração de *Salmonella* spp. na casca. Dentre os extrínsecos, destacam-se a cepa e a concentração de bactérias, a temperatura, a umidade e a presença de matérias orgânicas. Em relação aos intrínsecos, a cutícula, as características da casca (integridade, espessura, porosidade, defeitos) e propriedades das membranas.

Dessa forma, o tempo e temperatura de armazenagem são fatores fundamentais para que as salmonelas passem da superfície da casca para as estruturas internas do ovo (STALDEMAN, 1986; SILVA, 1995). A desinfecção e o resfriamento do ovo, logo após a postura, são procedimentos adotados, em vários países, como medidas para redução da contaminação e da multiplicação bacteriana (HAMMACK *et al.*, 1993).

Estudo realizado por ERDOGRULL (2004) confirmou que o ovo é um significativo reservatório alimentar de patógenos como a *Salmonella* e *Listeria*. OLIVEIRA & SILVA (2000), pesquisando a ocorrência de *Salmonella* spp. em ovos, relacionada com as condições de armazenamento e a desinfecção da casca, observaram que ovos, experimentalmente, contaminados com *Salmonella* Enteritidis, apresentaram *Salmonella* Enteritidis, na casca pelo período de 21 dias, em ovos mantidos tanto em temperatura ambiente quanto sob refrigeração. A migração da contaminação de *Salmonella* Enteritidis, da casca para a gema, ocorreu a partir de 24 horas, com maior intensidade nos ovos mantidos em temperatura ambiente. Clara de ovos, clara batida e glacê não se mostraram substratos apropriados para a

multiplicação de *Salmonella* Enteritidis, quando armazenados tanto em temperatura ambiente como sob refrigeração.

A identificação de ovos positivos para *Salmonella* Enteritidis, até mesmo oriundos de um lote de poedeira infectado, é particularmente desafiante porque nem todas as poedeiras infectadas com *Salmonella* Enteritidis põem ovos infectados. Se tais poedeiras eliminam ovos infectados, o microrganismo é eliminado intermitentemente (GAST & HOLT, 2000; KELLER *et al.*, 1995; KINDE *et al.*, 2000). A primeira forte evidência do envolvimento de *Salmonella* Enteritidis com infecção humana, originada do consumo de alimentos preparados com ovos, ocorreu em um grande surto, em 1986, nos EUA, envolvendo massa comercial congelada recheada com uma mistura de queijo, condimentos esterilizados e ovos crus. O levantamento epidemiológico levou ao isolamento de *Salmonella* Enteritidis de várias amostras oriundas das granjas que forneceram os ovos. Uma análise retrospectiva dos surtos de infecção alimentar, nos EUA, revelou que, entre 1973 e 1984, 43 % dos surtos causados por *Salmonella* Enteritidis tinham o ovo como veículo, comparado com somente 18 % dos surtos, devido a outros sorotipos de *Salmonella* spp. A continuidade das análises revelou que do início de 1985, à metade de 1987, 77 % desses surtos tiveram como veículo o ovo tipo A, consumido mal cozido ou cru (SILVA, 1991). Nos EUA, a proporção de isolamentos de *Salmonella* Enteritidis aumentou de 6 %, em 1980, para 25 %, em 1995 (ALTEKRUSE *et al.*, 1997).

Nos EUA, os custos médicos e as perdas de produtividade devido à infecção por *Salmonella* spp., foram estimados em um bilhão de dólares em 1987 (ROBERTS, 1988) e aumentaram para quatro bilhões em 1994.

A *Salmonella* Enteritidis foi o principal patógeno responsável por infecções alimentares na Europa e América durante a década de 80 (BÄUMLER *et al.*, 2000; VELGE *et al.*, 2005). A *Salmonella* Enteritidis é o principal sorotipo causador de salmonelose e está freqüentemente implicado em torno de 60 % dos casos de salmonelose humana na Europa (THORNS, 2000).

Na Inglaterra, dois surtos de salmonelose humana envolvendo alimentos manufaturados em 1982 e 1985, tiveram um custo direto de US\$ 630.000 e US\$ 24 milhões, respectivamente (COOPER, 1994).

Em 1997, a *Salmonella* Enteritidis participou, em 70 %, dos casos de salmoneloses humana na Inglaterra e no País de Gales (COGAN & HUMPHREY, 2003), havendo, depois, um declínio de sua incidência. A *Salmonella* Enteritidis, porém, é o sorotipo mais comumente isolado de infecções gastrointestinais no Reino Unido (ANON, 2005) e continua sendo o sorotipo mais significativo de salmonela em saúde pública, incluindo a América do Norte (CDC 2004).

No Brasil, o primeiro relato de ocorrência de *Salmonella* Enteritidis em aves foi realizado por pesquisadores da Universidade de São Paulo (USP), em 1990 (FERREIRA *et al.*, 1990). Em 1993, a *Salmonella* Enteritidis emergiu como um grande problema de saúde pública e os estudos epidemiológicos revelaram que a entrada desse sorotipo no Brasil ocorreu através da importação de material genético avícola contaminado (IRINO *et al.*, 1996; TAVECHIO *et al.*, 1996; SILVA, 1997), provavelmente, no final da década de 80 (SILVA & DUARTE, 2002). O surgimento de *Salmonella* Enteritidis aumentou a incidência de infecções associadas ao consumo de frangos e alimentos preparados com ovos crus ou insuficientemente cozidos (RODRIGUE *et al.*, 1990; CAFFER & EIGUER, 1994; PINTO, 1999).

TAUNAY *et al.* (1996) analisaram as alterações ocorridas na frequência dos sorotipos de *Salmonella* spp. isolados no período de 1950 a 1990, no estado de São Paulo, provenientes de infecções humanas e não humanas e observaram que no período de 1950-66 não houve predomínio de nenhum sorotipo, entretanto no período de 1970-76 a *Salmonella* Typhimurium passou a ser o sorotipo predominante com 77 % dos isolados. Observou-se um aumento significativo de *Salmonella* Agona, bem como de uma grande variedade de sorotipos. Quanto às salmonelas de origem não humana, chama a atenção o elevado número (mais de 100) de sorotipos.

Levantamento realizado no Instituto Adolfo Lutz, em São Paulo, mostrou que, entre 1970 e 1990, a *Salmonella* Enteritidis foi isolada em apenas 0,37 %, das 28.658 amostras de fontes humanas e 0,85 %, das 14.345 amostras não-humanas, porém, durante os anos de 1991 a 1995, a *Salmonella* Enteritidis foi o sorotipo mais comum de *Salmonella* identificado, como ilustra a Tabela 1 (TAVECHIO *et al.*, 1996).

A produção alternativa de frango de corte vem crescendo no Brasil desde a década de 90. Além da questão cultural envolvida, esse tipo de produção tem se

tornado uma esperança para os pequenos e médios produtores de qualquer região do país, tanto para o consumo familiar como para a produção comercial. ZANUSSO (2004) relatou que o mercado para produtos diferenciados encontra-se em expansão com uma fatia de 3 % em relação aos produtos oriundos de frangos criados em sistema convencional, setor em que o Brasil assumiu o primeiro lugar no comércio internacional (ABEF, 2005)

BEZERRA *et al.* (1995) realizaram pesquisa com “galinha caipira” (nativa) e isolaram *Salmonella* spp. em 60 % das amostras de ovos analisadas, mostrando o risco para a saúde pública.

**Tabela 1.** Isolamento de *Salmonella* de fontes humanas e não humanas entre os anos de 91 – 95.

Sorotipos	Fontes humanas (%)					Total	Fontes não humanas (%)					Total
	91	92	93	94	95		91	92	93	94	95	
<i>Salmonella</i>	91	92	93	94	95		91	92	93	94	95	
Typhimurium	11,1	13,1	11	7,8	4,8	200	9,9	5	5,8	4,4	2,1	151
Agona	16	12,5	8,6	3,6	3,6	185	6,4	3,7	3,6	4,4	1,2	115
Infantis	17,2	3,6	2,8	4,4	2,8	44	2,9	7,6	1	4,9	4	120
Hadar	6,6	5,6	11,6	1,9	0,8	102	2,6	7,4	2,5	2,7	3,6	116
Enteritidis	1,2	2	10,1	43,3	64,9	668	0	0	1,8	22	40,7	546
Outros	37	45,2	35,1	27,7	18,5		78,2	76,3	85,3	61,6	48,4	
Total amostras	488	305	327	524	610	2254	312	462	916	528	1018	3236

**Fonte:** Tavechio *et al.*, (1996)

Pesquisa de *Salmonella* spp. em ovos comerciais distribuídos em pontos de venda em Campinas-SP revelou que, de 124 amostras compostas por 10 ovos cada, 12 (9,6 %) e quatro (3,2 %) foram positivas para *Salmonella* spp. na casca e na gema, respectivamente, e que o único sorotipo identificado foi *Salmonella* Enteritidis (OLIVEIRA & SILVA, 2000).

Levantamentos realizados no Brasil, em 2001, mostraram que a *Salmonella* Enteritidis em material avícola é o principal sorotipo responsável pelas infecções humanas. As carcaças de frangos apresentam altas taxas de contaminação por *Salmonella* Enteritidis, mas os ovos e seus derivados,

principalmente a maionese caseira, são os principais responsáveis pelos surtos humanos (SILVA & DUARTE, 2002).

SILVA (2005) reforçou que *Salmonella* spp. em frangos, exceto os sorotipos espécie-específicos, geralmente não está relacionada a perdas de produtividade na criação.

O consumo da carne de frango é conhecido como uma das maiores fontes de infecções alimentares em humanos (FITZGERALD *et al.*, 2001). As carcaças frescas de aves são freqüentemente contaminadas durante o abate, representando uma ameaça à saúde pública, se não manuseadas adequadamente na cozinha (SNOEYENBOS, 1991).

REZENDE (2002) detectou 75 % dos lotes de frango de corte de agroindústrias goianas positivos para a *Salmonella* spp., o que de certa forma traz preocupação para as produções alternativas, já que pesquisas não têm sido conduzidas nessas criações e nelas os desafios por agentes patogênicos talvez sejam maiores.

PEREIRA *et al.* (1999) isolaram três cepas (2,83 %) de *Salmonella* Enteritidis, de amostras de suabes cloacais de 106 frangos de corte, em quatro unidades de criação industrial, do Estado do Rio de Janeiro, sendo as três amostras originárias de uma única unidade de criação. Esses autores analisaram o sistema de criação dessas aves e apontaram o piso de chão batido como o possível responsável pela má condição sanitária do ambiente.

CARVALHO & CORTEZ (2003), pesquisando a qualidade microbiológica da carne de aves e seus produtos no que se refere à presença de *Campylobacter jejuni* e *Salmonella* spp., encontraram 17 amostras, ou seja, (32,6 %) contaminadas por *Campylobacter jejuni* e 15 (28,8 %) por *Salmonella* spp. em 52 amostras analisadas, mostrando que o homem corre o risco de sofrer toxinfecção alimentar, mesmo adquirindo produtos industrializados.

CARDOSO *et al.* (2006) pesquisando enterobactérias em carcaças de frango de estabelecimentos comerciais de Fortaleza-CE, constataram que, de 51 carcaças examinadas, 11,8 % estavam contaminadas com *Salmonella* spp.

O uso de antimicrobianos pode selecionar bactérias resistentes no ecossistema de uso (SILVA e DUARTE, 2002). Patógenos humanos e genes de resistência podem passar entre humanos, animais e outros ecossistemas, via contato com animais ou através do consumo de alimento ou água contaminada (KELLEY *et al.*, 1998).

O uso indiscriminado de agentes antimicrobianos na alimentação de animais de produção tem contribuído para a ocorrência da resistência bacteriana, incluindo patógenos zoonóticos, os quais podem ser transmitidos ao homem através da cadeia alimentar (AARESTRUP, 1999; TOLLEFSON & MILLER, 2000). Muitas drogas podem ser usadas tanto terapêuticamente quanto profilaticamente ou como promotoras de crescimento (aditivos alimentares). Apesar da legislação e do controle do uso total de antimicrobianos na alimentação de animais de produção, nos últimos anos, tem sido significativo o aumento da ocorrência de resistência de *Salmonella* spp. nos países desenvolvidos (THRELFALL, 2002).

ELBOUX *et al.* (2002) citam que houve um aumento de resistência de *Salmonella* spp. ao ácido nalidíxico e cefoxitina comparado com amostras de *Salmonella* spp. isoladas há mais de 10 anos. Estudos realizados em Portugal mostraram que 60 % dos produtos avícolas analisados estavam contaminados com *Salmonella* spp. de diferentes sorotipos, sendo a *Salmonella* Enteritidis o mais prevalente, e que 75 % desses isolados, foram resistentes a um ou mais agentes antimicrobianos, sendo mais freqüente a resistência ao ácido nalidíxico (ANTUNES *et al.*, 2003).

Desde o início dos anos 90 tem sido dramático o aumento da ocorrência de amostras de *Salmonella* spp. com múltipla resistência às drogas antimicrobianas, em muitos países desenvolvidos, principalmente, amostras de *Salmonella* Typhimurium fagotipo 104 que, agora, parece ter uma distribuição mundial (THRELFALL, 2002). A resistência das salmonelas que causam zoonoses às drogas antimicrobianas é uma consequência indesejável, mas talvez inevitável do uso de antimicrobianos na alimentação animal.

OLIVEIRA *et al.* (2006) pesquisando a sensibilidade de *Salmonella* spp. isolada de carcaças de frangos comercializados no Estado do Ceará, encontraram *Salmonella* spp. em 11.8 % das carcaças examinadas. Foram identificados três

sorotipos: *Salmonella* Enteritidis (50 %); *Salmonella* Panamá (33 %) e *Salmonella* Newport (17 %). No teste de sensibilidade 100 % das amostras de *Salmonella* spp. isoladas apresentaram resistência a Ampicilina e Tetracilina.

Em virtude dos ovos de galinhas serem importantes fontes de proteínas e terem custo relativamente baixo, existe grande tendência para o aumento do seu consumo pelo homem, e, por essa razão, a contaminação dos ovos, particularmente, com salmonelas toxigênicas, vem ganhando considerável significado em saúde pública, devido ao relato de ocorrência de toxinfecções alimentares, em decorrência do consumo de ovos processados em refeitórios e cozinhas industriais (BEZERRA, 1995).

## 2.6 Métodos de Diagnóstico

A tendência ao menor consumo de carnes vermelhas pela população e o auge das comidas rápidas têm impulsionado a busca por produtos, à base de carne de frango, prontos para o consumo. Para assegurar a inocuidade desses produtos é necessário realizar controles microbiológicos com métodos rápidos, eficientes e sensíveis (VIORA & ANSELMO, 1999).

O diagnóstico das infecções por *Salmonella* spp. é realizado através do isolamento e identificação do agente (CAMPOS, 2002), podendo ser complementado através do histórico, sinais clínicos, lesões e mortalidade (MACHADO, 2000).

O método clássico de cultivo, apesar de muito laborioso e demorado, adequa-se muito bem frente aos mais de 2200 sorotipos existentes. Para pesquisa de *Salmonella* spp. em alimentos, o método recomendado pelo Bacteriological Analytical Manual (BAM), American Public Health Association (APHA), Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABTN) e Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) é o método clássico de cultivo, desenvolvido com a finalidade de garantir a detecção desse microrganismo, mesmo em alimentos que apresentem situações extremamente desfavoráveis para o seu desenvolvimento,

como alimentos com microbiota competidora muito maior que a população de *Salmonella* spp., alimentos em que as células se encontrem em número muito reduzido e/ou alimentos em que as células se encontrem injuriadas pela técnica da preservação, como a aplicação de calor, congelamento, secagem, salga, cura, entre outros (ECKNER *et al.*, 1992).

O Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA - Portaria nº 193), criado pelo MAPA, adotou normas que considerou importantes para tentar prevenir ou controlar a presença de *Salmonella* em aves e produtos alimentícios de origem aviária (PNSA - Portaria nº 8). Essas normas contêm recomendações sobre a rotina bacteriológica para a pesquisa de *Salmonella* (NASCIMENTO *et al.*, 2000).

A escolha do método laboratorial adequado é pré-requisito essencial para o isolamento de qualquer microrganismo, pois há diversos fatores que podem afetar os resultados do isolamento de bactérias pertencentes ao gênero *Salmonella* (ALBUQUERQUE *et al.*, 2000).

Segundo NAVARRO (1994), a detecção e identificação adequada de *Salmonella* Enteritidis são partes fundamentais no controle e prevenção da infecção. A identificação rápida e precisa ajudará na erradicação, mediante a destruição oportuna das aves infectadas, na implementação de medidas de controle em lotes infectados e na prevenção em lotes susceptíveis. Dessa forma, deve-se detectar a presença de *Salmonella* spp. no meio ambiente (cama), nas aves (órgãos internos) e em amostras de ovos frescos ou embrionados, sendo esta a forma mais direta para demonstrar que um lote de aves está transmitindo a *Salmonella* spp. através dos ovos. Entretanto, as pesquisas de *Salmonella* spp. em ovos nem sempre logram sucesso de isolamento (BEZERRA, 1995), pois a eliminação das bactérias nas fezes é intermitente, e por essa razão, teremos resultados negativos ou baixíssimos de isolamento bacteriano, a partir da casca ou do conteúdo do ovo (HUMPHREY *et al.*, 1989).

Os métodos para o isolamento e identificação da *Salmonella* spp. de acordo com ISO 6579 (1993), obedecem às seguintes etapas: pré-enriquecimento; enriquecimento em caldo seletivo; plaqueamento e identificação presuntiva; confirmação bioquímica (LOGUERCIO *et al.*, 2002); classificação sorológica e sorotipagem.

A seleção dos meios de cultura e metodologia de preparo e cultivo das amostras varia de acordo com a fonte consultada, visando sempre, no entanto, obter as melhores condições de isolamento, frente aos diferentes tipos de amostras (HAJDENWURCEL, 1997).

O pré-enriquecimento, geralmente, é empregado na análise de material desidratado ou quando é necessário para viabilizar o início da pesquisa da bactéria (NASCIMENTO *et al.*, 2000), objetivando recuperar as células de *Salmonella* spp. que, normalmente, estão presentes em pequenas quantidades e em condições debilitadas nos alimentos processados. Foi demonstrado que o pré-enriquecimento de amostras avícolas e amostras do ambiente avícola aumentam a recuperação de *Salmonella* spp. de 10 para 25 % (THOMASON *et al.*, 1977; THOMASON & DODD, 1978). As demais etapas da seqüência bacteriológica são elementares.

O enriquecimento e o plaqueamento são as etapas com maior número de possibilidades de meios de cultivo (FLOWERS *et al.*, 1992; WRAY & DAVIES, 1994), pois essas etapas devem auxiliar no desenvolvimento e recuperação da bactéria, ao mesmo tempo em que devem impedir o desenvolvimento de microrganismos competidores.

O enriquecimento em caldo seletivo tem como objetivo inibir a multiplicação da microbiota acompanhante e promover a elevação preferencial do número de células de *Salmonella* spp. Nessa etapa recomenda-se a utilização de dois meios de enriquecimento, porque a resistência de *Salmonella* spp. aos agentes seletivos varia de cepa para cepa. Os meios de enriquecimento mais comuns são os caldos Selenito Cistina (SC), Tetracionato (T), Rappaport-Vassiliadis (RV) e seus derivados acrescidos, ou não, de Novobiocina (NASCIMENTO *et al.*, 2000).

BARBOSA *et al.* (1999) realizaram estudos comparando métodos para o isolamento de *Salmonella* em carcaças de frangos e observaram que houve um maior número de amostras positivas quando utilizaram como meio de enriquecimento caldo SC e T, em relação ao caldo RV.

ALBUQUERQUE *et al.* (1995), comparando diferentes meios de cultura para o isolamento de *Salmonella* spp. em matérias primas e rações, observaram que, em amostras naturalmente contaminadas, o caldo de enriquecimento T foi

superior aos caldos SC e RV e que a temperatura de 42°C foi vantajosa em relação a 37°C para o crescimento bacteriano.

Segundo MICHAEL *et al.* (2003), o caldo RV, como enriquecimento seletivo, é superior ao caldo SC para obter isolamento de *Salmonella* spp. PAIVA *et al.* (2006), em estudo comparativo das etapas de pré-enriquecimento e enriquecimento direto de amostras de fezes armazenadas por 24 e 96 horas, para isolamento de *Salmonella* spp., concluíram que o caldo RV mostrou-se estatisticamente superior ( $p > 0,05$ ) aos caldos SC e T.

Alguns autores afirmam que melhor que os resultados apresentados de superioridade de um caldo sobre outro é a utilização combinada de mais de um deles (SMYSER & SNOEYENBOS, 1969; EDWARD & EWING, 1972; NASCIMENTO *et al.*, 2000).

O plaqueamento seletivo diferencial visa promover o desenvolvimento preferencial de colônias de *Salmonella* spp., com características típicas que as diferenciem dos microrganismos competidores, recomendando-se que seja feito em mais de um tipo de meio de cultura (SILVA *et al.*, 1997). Os meios de cultivo para plaqueamento são muitos e os mais comuns são Ágar Verde Brilhante (VB), Ágar de MacConkey (MC), Ágar *Salmonella-Shigella* (SS), Ágar de Hektoen (HE) e Ágar Xilose Lactose Desoxicolato (XLD) (NASCIMENTO *et al.*, 2000). O Ágar MC é considerado o meio que oferece menores chances de isolar *Salmonella* (FLOWERS *et al.*, 1992), mas BERCHIERI JÚNIOR *et al.* (1984) afirmaram que seu rendimento é similar ao observado no Ágar VB.

Muitos autores afirmam que não é possível estabelecer qual seria o meio de plaqueamento ideal para utilização no isolamento de *Salmonella* spp. (YUNO *et al.*, 1995; PETERSEN, 1997; NASCIMENTO *et al.*, 2000).

O isolamento e a identificação de *Salmonella* são processos demorados devido ao tempo necessário para obtenção dos resultados, sendo um dia para a etapa de enriquecimento seletivo, além de dois a três dias para as etapas de isolamento em ágar seletivo, identificação bioquímica e confirmação com testes sorológicos (CARDOSO & TESSARI, 2004).

Do ponto de vista estritamente bacteriológico, o conhecimento da prevalência de sorotipos de *Salmonella* spp., numa determinada fonte de infecção ou região geográfica, propicia uma economia de tempo e de material empregados no diagnóstico das estruturas antigênicas, por parte de laboratórios locais (HOFER *et al.*, 1997).

O monitoramento, através de exames bacteriológicos e sorológicos, é imprescindível para detectar a presença de *Salmonella* spp. para avaliar o resultado do programa de controle, pois demonstra a ausência de salmonelas na propriedade avícola ou o momento em que ocorreu a infecção do plantel e a sua disseminação (BERCHIERI JÚNIOR, 1999). Os órgãos de predileção para o isolamento de *Salmonella* são o baço, fígado, coração, conteúdo intestinal, saco da gema, medula óssea, pulmão e locais lesionados, como a articulação (artrite) e os sacos aéreos (aerossaculite) (BERCHIERI JÚNIOR, 2000).

Os cultivos bacteriológicos de amostras de ambiente, obtidas de fossas de excretas e bandejas transportadoras de ovos, têm sido os métodos principais de amostragem em programas para identificar lotes de postura comercial que foram contaminados com *Salmonella* Enteritidis, representando, dessa forma, um risco de produzir ovos infectados. O pó e aerossóis podem carrear bactérias e dessa forma, a amostragem do ar oferece uma alternativa potencialmente eficiente e de baixo custo para detectar *Salmonella* Enteritidis em galpões avícolas (GAST *et al.*, 2004a). Os filtros do sistema de ventilação dos galpões avícolas também têm sido usados com sucesso como amostras para detectar a presença de *Salmonella* spp. (KWON *et al.*, 2000; 2000a).

Os métodos laboratoriais convencionais para isolamento e identificação de *Salmonella* spp. requerem de três a cinco dias para obtenção de resultado negativo e até sete dias ou mais para confirmar um resultado positivo (NAVARRO, 1994). Segundo ANON (1993), os métodos de cultivos atuais são laboriosos e consomem muito tempo, requerendo pré-enriquecimento, enriquecimento seletivo, plaqueamento indicativo e sorobiotipagem.

A prevenção de *Salmonella* spp. é importante tanto para a saúde das aves quanto para a indústria de alimentos e pode ser realizada através de programas rápidos e minuciosos de monitoramento (EYIGOR & CARLI, 2003).

A necessidade de métodos mais rápidos e menos laboriosos de detecção tem levado a avanços significativos o desenvolvimento de pesquisa e a comercialização de “kits” de diagnósticos baseados em técnicas sorológicas, imunoabsorvância enzimática, hibridização de ácidos nucleicos, entre outras (D'AOUST *et al.*, 1993).

Os modelos de infecção experimental são ferramentas valiosas para entender e prevenir a deposição de *Salmonella* Enteritidis no interior dos ovos. Acredita-se que a inoculação oral seja semelhante às infecções naturais das aves. Estudos de infecções orais, porém, têm gerado com frequência níveis relativamente baixos de contaminação dos ovos. GAST *et al.* (2003), avaliando se passagens repetidas *in vivo* de uma cepa de *Salmonella* Enteritidis afetaria sua capacidade para contaminar ovos de poedeiras infectadas experimentalmente, concluíram que a *Salmonella* Enteritidis, reisolada a partir de ovários e ovidutos, induziu um aumento significativo na contaminação de ovos (16,97 %), em comparação com a cepa original (8,27 %).

Uma das formas mais largamente aceita de amostragem em granjas avícolas, para pesquisa de *Salmonella* spp., é o método do suabe de arrasto, por ser muito prático, ter custo eficaz e talvez ser o método mais sensível na detecção de *Salmonella* spp., quando comparado a outros métodos (KINGSTON, 1981; OPARA *et al.*, 1992).

Em criações avícolas, a transmissão vertical de *Salmonella* spp., pode ser confirmada pelas análises de forros de caixa de transporte (ROCHA *et al.*, 2003). ZANCAN *et al.* (2000) isolaram *Salmonella* spp. (44,45 %) em caixas de transporte de cinco granjas de poedeiras em seis analisadas, bem como GAMA *et al.* (2003) que, pesquisando *Salmonella* spp. em caixas de transporte de 12 lotes de poedeiras, isolaram *Salmonella* Enteritidis em quatro lotes (33,3 %). ROCHA *et al.* (2003), estudando caixas de transporte de 18 lotes de poedeiras, em três empresas diferentes, observaram que, de 180 amostras, 20 foram positivas para *Salmonella* spp., representando um percentual de 11 %.

GAMA (2001), estudando galinhas destinadas à postura comercial, desde a chegada do lote de pintainhas até a fase de produção, verificou que a transmissão vertical continua sendo uma importante via de introdução de salmonelas paratíficas

nas granjas e que lotes de aves naturalmente infectadas produziram ovos contaminados. Alguns autores, porém, afirmam que não existe nenhuma correlação entre a eliminação de *Salmonella* spp. nas fezes e a frequência de contaminação do ovo (GAST *et al.*, 2005).

Testes sorológicos são recomendados para detecção de aves portadoras de *Salmonella* spp. ou que sofreram infecções prévias e, por esta razão, apresentam anticorpos séricos (NICHOLAS *et al.*, 1990), pois uma consequência da invasão dos órgãos por *Salmonella* Enteritidis é a resposta imune da ave infectada que produz anticorpos tanto do tipo IgG como de IgM podendo persistir por longos períodos no organismo das aves. Para medir a resposta de anticorpos, existem diversas provas, tais como: aglutinação rápida em placas com sangue total e soro (SAR), microaglutinação e ELISA (imunoensaio com enzimas associadas) (NAVARRO, 1994).

RODRIGUES (2003), pesquisando a presença de *Salmonella* spp. em poedeiras, oriundas de pequenos produtores do Rio Grande do Sul, detectou baixo número aves positivas em SAR, quando comparado ao suabe de cloaca, provando que a SAR só pode ser usada como teste de triagem.

A determinação do *status* imune no soro e ovos das aves, pelo ELISA, tem sido considerada um método potencial para predizer *status* de infecção por *Salmonella* Enteritidis (GAST *et al.*, 1997). Devido às altas concentrações de IgG circulantes persistindo por vários meses, seguindo a infecção com *Salmonella* (HASSAN *et al.*, 1990; NICHOLAS *et al.*, 1991), o ELISA pode cobrir o problema da detecção da infecção, devido à excreção fecal intermitente de *Salmonella* spp. O primeiro imunoensaio para *Salmonella* spp. foi realizado em 1977, e desde então, vários ELISA têm sido desenvolvidos, usando-se tanto anticorpos policlonais quanto monoclonais para detectar a maioria dos sorotipos de *Salmonella* spp. (LOGUERCIO *et al.*, 2002).

Atualmente, existem novas técnicas disponíveis comercialmente, que apresentam sensibilidade e especificidade iguais ou superiores às técnicas convencionais e que podem demonstrar um resultado negativo em apenas dois dias (BAILEY & COX, 1992), como o ELISA (MALLINSON *et al.*, 1989), sondas de DNA

radioativas ou colorimétricas (HASAN *et al.*, 1991) e técnicas de imunodifusão (BAILEY & COX, 1991).

O teste sorológico de rotina empregado para fazer triagem em lotes de aves é a SAR por ser um método rápido, barato e efetivo na detecção de infecções causadas por *Salmonella Pullorum*, mesmo podendo apresentar reações falso-positivas (HANENBERG, 1994).

Para CHART *et al.* (1990), o ELISA possui sensibilidade superior (98 %) à prova de aglutinação (88 %). Para OPITZ *et al.* (1994), por sua vez, o ELISA apresenta especificidade e sensibilidade de 99,5 % e 95,5 %, respectivamente, em aves livres de patógenos específicos infectadas no primeiro dia de vida e examinadas sorologicamente das 14 às 46 semanas de idade. Além dessas duas perspectivas teóricas, LOGUERCIO *et al.* (2002) compararam um teste de ELISA baseado em um anticorpo monoclonal específico para uma proteína de membrana externa de *Salmonella Enteritidis* com o método de cultivo tradicional na detecção de *Salmonella spp.* em 110 amostras de lingüiça suína frescal no qual o ELISA revelou sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivos e negativos de 100 %, 98 %, 87 % e 100 %, respectivamente, indicando que o teste imunológico foi bastante eficaz na determinação de *Salmonella spp.* Ainda sobre o ELISA, TAN *et al.* (1997) utilizando anticorpo monoclonal e, na cultura, o meio semi-sólido Rappaport Vassiliadis modificado (MSRV) para detecção de *Salmonella spp.* em galinhas, verificaram que o limite de detecção no ELISA foi superior ao MSRV, apresentando sensibilidade de 92,9 % e especificidade de 96,7 %.

IBA *et al.* (1993) desenvolveram um ELISA indireto para detectar portadores de infecção por *Salmonella Gallinarum* e *Salmonella Pullorum*, o qual mostrou boa correlação entre os testes realizados com gema e soro de uma mesma ave, havendo correspondência entre o teste de pulorose (SAR) e o ELISA, sendo que os resultados falso-positivos obtidos pelo teste de pulorose são eliminados pelo método imunoenzimático.

BEZERRA (1995) utilizou a gema de ovo para pesquisar anticorpos contra *Salmonella spp.*, com o teste de ELISA, representando, dessa forma, uma alternativa ao uso de sangue total ou soro de aves, por diminuir o “stress” em virtude do manuseio excessivo dessas aves.

Mais recentemente, estão sendo desenvolvidas técnicas como a reação em cadeia de polimerase (PCR) que reduzem o tempo para um resultado negativo a um dia ou menos (COHEN *et al.*, 1994). WHYTE *et al.* (2002) afirmaram que o teste de PCR para detectar *Salmonella* spp. em carne de frango apresentou sensibilidade e especificidade superiores ao método de cultura tradicional e que a incorporação do teste de PCR, em conjunto com métodos padrões de cultura, pode ser efetiva para demonstrar um perfil mais fiel da prevalência desse patógeno em carcaças de frango. A sensibilidade aumentada do teste de PCR, em comparação com técnicas de cultura, tem sido relatada (BENNET *et al.*, 1998; RYCHILIK *et al.*, 1999; AMAVISIT *et al.*, 2001), sendo atribuída ao fato de o PCR poder detectar a seqüência alvo, sem levar em conta o crescimento potencial da célula alvo (WHYTE *et al.*, 2002).

## 2.7 Controle

O sucesso no controle da *Salmonella* spp. 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 (fábrica de ração, reprodutoras, incubatórios, granjas de produção comercial, abatedouros e manejo do produto acabado, incluindo a cozinha da dona de casa) (HINTON, 1988; LOZANO, 1996). TESSARI *et al.* (2003) afirmaram que as salmoneloses necessitam de um cuidadoso programa de prevenção e controle que deve contemplar medidas que possam evitar a transmissão vertical e horizontal.

Diversas estratégias de redução de risco têm sido recomendadas e incorporadas em programas de controle de qualidade microbiológicos nacionais e regionais para ovos (HOGUE *et al.*, 1998). A implementação de um programa para assegurar a qualidade microbiológica das cascas dos ovos tem sido associada com a redução na freqüência de isolamentos de *Salmonella* Enteritidis em granjas avícolas, na Pensilvânia (WHITE *et al.*, 1997). POPPE *et al.* (1998) validaram microbiologicamente o controle dos pontos críticos como a classificação

macroscópica de ovos sujos e trincados, pois o “pool” de ovos trincados e sujos foi mais freqüentemente contaminado com *Salmonella* spp.

ANDRADE (2005) avaliando o efeito da sanitização da casca com quaternários de amônia e da via de inoculação no isolamento da *Salmonella* Enteritidis fagotipo 4, em ovos embrionados, de duas linhagens de frango de corte concluíram que a eclodibilidade total e dos ovos férteis inoculados na casca não foi afetada pela *Salmonella* Enteritidis tanto na linhagem Ross como na ISA Label, embora o agente infeccioso estivesse presente durante todo o processo. Por outro lado, a eclodibilidade foi afetada quando a via de inoculação foi a cavidade alantóide. Ao final da incubação, a *Salmonella* Enteritidis propiciou aumento da mortalidade embrionária ( $P < 0,05$ ) para as linhagens Ross e ISA Label de 17,02 % e 13,04 %, respectivamente, o que resultou naturalmente em menores taxas de eclodibilidade de ovos férteis (68,01 % e 67,39 %) e de ovos totais (64 % e 65,59 %) para aves Ross e ISA Label. A sanitização dos ovos com compostos quaternários de amônia (1.000 ppm) e posteriormente inoculação com *Salmonella* Enteritidis não impediu a contaminação da casca e a sua penetração nas membranas da casca.

Segundo GREIN *et al.* (1997 apud RIBEIRO, 2004), na Suécia, o fator mais importante na prevenção da contaminação por *Salmonella* spp. é o controle de aves importadas. As aves devem possuir certificado de origem que garanta que elas são livres de *Salmonella* spp. e, após ingresso, sofrem quarentena durante 15 semanas, período no qual são submetidas a quatro exames bacteriológicos. Caso o microrganismo seja isolado, as aves são sacrificadas. Dessa forma, naquele país, os ovos e poedeiras estão livres de *Salmonella* spp., devido à introdução de regulamentos governamentais desde 1961.

A contaminação externa da casca do ovo é importante para determinação de sua vida-de-prateleira e para a segurança dos consumidores (SCHOWNI *et al.*, 1995). Na tentativa de reduzir problemas decorrentes da contaminação por microrganismos patogênicos e/ou deteriorantes, os ovos são submetidos a processos como a lavagem da casca e pasteurização. Recentemente, vários estudos têm mostrado que alguns agentes químicos utilizados na lavagem dos ovos podem causar danos físicos ao produto, facilitando, inclusive, a entrada de bactérias patogênicas através da casca (HUTCHISON *et al.*, 2004). ARAGON-ALEGRO *et al.*

(2005) avaliaram a eficiência da lavagem dos ovos, anteriormente à quebra, na redução da contaminação de ovo líquido por *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, e *Salmonella* spp. e seu efeito sobre a população de microrganismos aeróbicos e concluíram que o emprego ou não, da etapa de lavagem não tem influência na qualidade microbiológica do produto final, desde que a matéria-prima apresente boa qualidade.

Na indústria de alimentos o ovo - pasteurizado, congelado ou desidratado - é utilizado preferencialmente ao ovo em casca, pois, além do sabor, cor, valor nutritivo e propriedades funcionais serem comparáveis aos do ovo *in natura*, apresenta vantagens operacionais, como melhor qualidade, estabilidade e uniformidade, economia de mão-de-obra, menor espaço para armazenamento e facilidade para medir as porções. O ovo líquido é utilizado na fabricação de vários alimentos como bolos, merengues, produtos de confeitaria e embutidos (BARON *et al.*, 2004).

A refrigeração dos ovos durante transporte e estocagem, em ambiente com temperatura de 7°C, tem sido proposta e instituída como uma temperatura média para prevenir que números iniciais pequenos de contaminação por *Salmonella* Enteritidis multipliquem-se para níveis que causem mais facilmente doença em humanos (USDA, 1998; President's Council on Food Safety, 1999). CURTIS *et al.* (1995) e THOMPSON *et al.* (2000) afirmam que a tecnologia convencional de refrigeração pode requerer vários dias para baixar a temperatura interna do ovo, suficientemente para restringir o crescimento bacteriano.

As medidas gerais de biossegurança, higiene e limpeza são extremamente importantes: Adquirir aves de um dia livres de *Salmonella* Enteritidis ou de qualquer outro sorotipo e de antimicrobianos; evitar pássaros, animais de estimação, criações múltiplas (aves, suínos, bovinos e peixes), aves de múltiplas idades; dar destino correto aos dejetos dos galpões e animais mortos; aplicar o vazio sanitário, controlar moscas e roedores, veículos que entram em propriedades avícolas, como aqueles que transportam fezes, ovos e aves, devendo ser limpos antes de entrar na propriedade, lembrando que a matéria orgânica pode prejudicar a ação dos desinfetantes (BERCHIERI JÚNIOR, 1999).

Segundo GAST (1997), o primeiro passo para prevenir a introdução de *Salmonella* spp. em granjas é evitar a transmissão vertical. Portanto, qualquer falha no programa de biossegurança levará a uma contaminação da progênie. Assim, lotes livres de contaminação dependem de um controle rígido e eficaz dentro dos programas sanitários de matrizes que reflete, de forma positiva, na saúde dos pintinhos (TESSARI *et al.*, 2003; ROCHA *et al.*, 2003).

Processos que previnam a aderência das bactérias são eficazes em reduzir a colonização por patógenos, nos segmentos do trato intestinal, como: promover a quebra dos mecanismos que sintetizam o glicocálix, principalmente pela inibição da polimerase bacteriana que estabelece os elos das ligações no polissacáride; desenvolver compostos que ocupem e bloqueiem o loco ativo de ação da lectina, que liga o glicocálix da bactéria com o do enterócito e estabelecer bloqueio dos receptores nas células hospedeiras, evitando, assim, a ligação do glicocálix bacteriano com o glicocálix do enterócito (MACARI & MAIORKA, 2000).

A redução da ocorrência de infecções por *Salmonella* Enteritidis em lotes de poedeiras comerciais tem sido um importante objetivo em Saúde Pública (HOGUE *et al.*, 1997).

O programa de controle para as salmonelas específicas das aves (*Salmonella Pullorum* e *Salmonella Gallinarum*) deve ser distinto do programa de controle para as paratifóides (causadores das desordens alimentares dos humanos). Dessa forma, para o programa de controle das paratifóides, deve-se dar importância aos seguintes itens: pirâmide da cria (eliminar *Salmonella* spp. das reprodutoras de elite); programa de biossegurança (incluindo pessoal de manejo, movimentação dos equipamentos, limpeza, desinfecção, controle de ratos e insetos); ração (é uma parte crítica do programa); cama (observar a umidade da mesma, pois influencia o nível de multiplicação de *Salmonella* spp.); água (pode ser fonte de *Salmonella* spp. que chega ao galpão e meio de distribuição dentro do galpão. Dessa forma, deve-se clorar a água com 3-5 ppm); educação do pessoal, trabalhadores e qualquer pessoa que entre nas instalações (passo mais importante da implementação do programa de controle) e programa de intervenção (isolamento de *Salmonella* spp., antibiograma do isolamento, uso de antibióticos apropriados, restabelecimento da

flora intestinal normal e limpeza do ambiente com uso de bacterina autógena) (HOFACRE, 1998).

De acordo com BARROW (1999), a maior necessidade do controle de salmonelas paratíficas recai sobre aves jovens, pois, quando recém-eclodidas, apresentam uma imaturidade no sistema imunológico, não estando formada sua microbiota intestinal.

Segundo CERVANTES (1994), o controle de *Salmonella* spp. em reprodutoras pesadas é bastante complexo porque demanda esforço e dedicação suprema, por parte de todo o pessoal, para cumprir com seu objetivo de reduzir a incidência de *Salmonella* spp. ao mínimo possível, nas reprodutoras e sua progênie.

CERUTTI (1991) recomenda que se faça, mensalmente, uma amostragem de pintos oriundos de cada um dos lotes de matrizes em nascimento, no mês, para pesquisa de *Salmonella* spp., em um “pool” de saco vitelino, para complementar o programa de controle de qualidade. A avaliação das aves no primeiro dia de vida é muito importante para se detectar a transmissão vertical e o nível de contaminação do lote e para se tomarem as medidas de controle necessárias (O'BRIEN, 1988; MCILROY & MCCRAKEN, 1990).

Em 1995, o MAPA reforçou a legislação de controle de *Salmonella* Enteritidis nas granjas avícolas, enfatizando o PNSA (BRASIL, 1995), porém sua operacionalização tem ficado muito aquém do desejado (SILVA & DUARTE, 2002).

Aves de produção nascem com uma microbiota intestinal incompleta ou em formação (SLAVIN, 1995) e essa microbiota possui papel importante no funcionamento intestinal, atuando como primeira defesa contra patógenos entéricos, principalmente *Salmonella* Enteritidis, responsável por relevantes problemas de saúde pública, bem como na sanidade dos plantéis avícolas (GOODWIN, 1989).

A exclusão competitiva (cultura de Nurmi) consiste na inoculação de pintos recém-nascidos com um complexo de bactérias que são habitantes normais do intestino e que inibem acentuadamente a colonização e infecção por *Salmonella* spp. (SNOEYENBOS, 1991). O uso da exclusão competitiva tem prevenido efetivamente a colonização de galinhas por *Salmonella* spp., especialmente quando

microrganismos cecais indefinidos são dados aos pintinhos (BABA *et al.*, 1991; RANTALA & NURMI, 1973).

ANDREATTI FILHO *et al.* (1995) realizaram estudos sobre o controle da infecção em aves por SE utilizando compostos orgânicos e exclusão competitiva e observaram que a microbiota cecal anaeróbica de aves, administrada isoladamente ou em associação com lactose, reduz a quantidade de *Salmonella* Enteritidis no fígado, cecos e fezes.

Os probióticos (suplementos alimentares à base de microrganismos vivos) afetam benéficamente o animal hospedeiro, promovendo o balanço da microbiota intestinal (FULLER, 1989), sendo mais utilizados os dos gêneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus* e as leveduras (ROSTAGNO *et al.*, 1999). Os probióticos usados em avicultura possuem duas ações benéficas principais, que são: melhorar os índices zoeconômicos (maior produtividade, aumento no ganho de peso e melhor conversão alimentar) e reduzir a colonização intestinal por alguns patógenos, como as salmonelas (SILVA, 2000).

Diversos estudos indicam que a contaminação da ração tem um alto impacto na incidência de colonização do ceco por *Salmonella* (RICHARDSON, 2005). GAMA (2001) isolou, em fezes de poedeiras, *Salmonella enterica* cepa rugosa e atribuiu essa infecção ao consumo de ração contaminada, porém SILVA & DUARTE (2002) afirmam que as rações e matérias-primas de origem animal parecem não ser tão importantes na perpetuação do problema de *Salmonella* Enteritidis. Os roedores, porém, parecem ser reservatórios ambientais importantes de *Salmonella* Enteritidis em granjas contaminadas. Os reservatórios ambientais, como galpões avícolas e roedores, têm grande importância na introdução e perpetuação de infecção por *Salmonella* Enteritidis em lotes de poedeiras comerciais (HENZLER & OPTIZ, 1992; DAVIES & WRAY, 1995; 1996).

A redução da colonização intestinal por *Salmonella* Enteritidis, durante o período de crescimento, é crucial para conferir segurança aos ovos, minimizar perdas econômicas e reduzir os surtos de salmonelose humana (KASSAIFY & MINE, 2004).

A eliminação ou prevenção de *Salmonella* Enteritidis em frangos e em outras aves domésticas, especialmente em lotes de poedeiras comerciais (USDA, 1988), antes do processamento, aumentará as chances desses produtos serem livres de *Salmonella* Enteritidis (STERN *et al.*, 2001).

KASSAIFY & MINE (2004), estudando o efeito do suplemento alimentar proteico, na prevenção de infecção de *Salmonella* Enteritidis, em poedeiras comerciais, concluíram que, a gema do ovo contém componentes anti-aderentes ou imunomoduladores que podem atuar para prevenir a infecção com *Salmonella* Enteritidis.

A presença de salmonelas paratíficas em propriedades avícolas tem sido combatida com a utilização de ácidos orgânicos na ração e com oferecimento de produtos que aceleram o processo de instalação da microbiota intestinal das aves. Os ácidos orgânicos inibem o crescimento bacteriano pela redução do pH intestinal (BARCELLOS *et al.*, 2004), interferem com o metabolismo bacteriano pela redução do pH citoplasmático, bem como a inibição da ação enzimática e da síntese de DNA (VIEIRA & VIOLA, 2004).

A mistura dos ácidos orgânicos fórmico e propiônico tem sido eficiente para reduzir a presença de *Salmonella* spp. na ração e seus componentes (BERCHIERI JÚNIOR, 1999). A adição de ácidos orgânicos na água de bebida também é outra maneira de erradicar *Salmonella* spp. na indústria avícola (BYRD *et al.*, 2001; KUBENA *et al.*, 2005). As propriedades físicas do alimento podem influenciar o pH, as populações microbianas e os ácidos graxos voláteis no trato digestório dos frangos (ENGBERG *et al.*, 2002).

O aperfeiçoamento da biosegurança e higiene, na indústria avícola do Reino Unido, e vacinação introduzida em meados de 1990 de maior parte de poedeiras comerciais e matrizes pesadas, reduziram largamente incidentes relatados de *Salmonella* Enteritidis, nas aves e em humanos (ANON, 2000). Melhoramentos semelhantes também ocorreram em outros países (WEGENER *et al.*, 2003; MARCUS *et al.*, 2004; MUMMA *et al.*, 2004), mas isso também tem sido um significativo reservatório de infecção em lotes de poedeiras comerciais (ADAK & GILLESPIE, 2004).

Uma forma de controlar *Salmonella* spp. nas aves domésticas é através da utilização de vacinas vivas atenuadas. Amostras de *Salmonella* spp. atenuadas podem ser usadas para prevenir colonização por cepas selvagens (ZHANG-BARBER *et al.*, 1999). As pesquisas de vacina viva têm abordado as espécies de *Salmonella* mais invasoras, como a *Salmonella* Typhimurium e *Salmonella* Enteritidis, por serem os sorotipos principais para segurança alimentar os quais representam os contaminantes mais comuns de carne e ovos relacionados à doença humana. Existem várias vacinas vivas de *Salmonella* Typhimurium e *Salmonella* Enteritidis disponíveis no mercado nos EUA. Muitas dessas vacinas retêm alguma habilidade para invadir os tecidos linfóides, habitar temporariamente, induzindo uma forte resposta imune sistêmica (JAMES, 2000) que reduz ou elimina a invasão dos tecidos pela amostra selvagem (CURTISS *et al.*, 1989).

Vacinas de *Salmonella* spp. representam uma forma para reduzir taxas de *Salmonella* spp. transportadas pelas aves domésticas (TAN *et al.*, 1997a). Alguns pesquisadores mostraram que a vacinação foi protetora (ALDERTON *et al.*, 1991; COOPER *et al.*, 1992), mas outros indicaram que não foi efetiva (BARROW *et al.*, 1990).

O uso de vacinas específicas em poedeiras e reprodutoras tem se mostrado uma ferramenta auxiliar no controle de *Salmonella* Enteritidis mas o procedimento mais indicado para o controle de *Salmonella* Enteritidis na avicultura está na aquisição e produção de lotes livres do agente (SILVA & DUARTE, 2002).

HASSAN & CURTIS (1997) utilizaram uma vacina viva com a cepa *Salmonella* Typhimurium X<sup>3985</sup>, avirulenta, via oral, em poedeiras comerciais, às 02 e 04 semanas de idade e concluíram que a vacina preveniu a transmissão, por 11 semanas, de *Salmonella* Typhimurium e *Salmonella* Enteritidis para os ovos de poedeiras vacinadas sem causar danos à produção de ovos.

Tem sido demonstrado que vacinas vivas de *Salmonella* spp. podem gerar imunidade cruzada contra microrganismos do mesmo sorogrupo do esquema de classificação de Kauffmann-White, CHACANA & TERZOLO (2006) sustentaram que uma vacina a base de *Salmonella* Enteritidis foi capaz de gerar imunização cruzada contra *Salmonella* Gallinarum.

CLIFTON-HADLEY *et al.* (2002) administraram vacina inativada contra *Salmonella* Typhimurium e *Salmonella* Enteritidis em pintos no primeiro dia de vida e às quatro semanas de idade, às oito semanas os mesmos foram desafiados. A colonização dos órgãos internos por *Salmonella* spp., das aves vacinadas, quando comparadas às não vacinadas, apresentou uma redução significativa.

OKAMURA *et al.* (2007) em estudo comparativo de vacina inativada bivalente de *Salmonella* para prevenir contaminação do ovo com *Salmonella enterica* sorotipos Enteritidis/Typhimurium e Gallinarum/Pullorum usando quatro diferentes modelos de desafio, constataram que a vacina utilizada foi eficaz na redução da contaminação dos ovos com *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium nos modelos de desafios intravenoso e intraperitoneal e com *Salmonella* Pullorum no desafio oral.

NAKAMURA *et al.* (2004) investigaram os efeitos da administração de vacinas inativadas de *Salmonella* Enteritidis, antes da indução da muda forçada em poedeiras comerciais, sobre a produção de ovos e eliminação de *Salmonella* Enteritidis, e os resultados mostraram que a vacinação pode ser efetiva na prevenção da exacerbação dos problemas de *Salmonella* Enteritidis em lotes potencialmente expostos à contaminação.

A administração intraperitoneal de linfocinas imunes de *Salmonella* Enteritidis aumenta a resistência à invasão dos órgãos por *Salmonella* Enteritidis, em pintos de um dia de idade (ZIPRIN & KOGUT, 1996). MCGRUDER *et al.* (1995) mostraram que a administração preventiva de imunolinfocinas de *Salmonella* Enteritidis, em pintos aos 30 minutos ou seis dias antes do desafio, causou uma redução significativa na invasão dos órgãos por *Salmonella* Enteritidis.

Recentemente, atenção tem sido dada, devido a sua alta produtividade, a Ig Y, imunoglobulina da gema do ovo, obtida de poedeiras imunizadas, como outra fonte de anticorpos (BARTZ *et al.*, 1980; YOKOYAMA *et al.*, 1998; MINE & KOVACS-NOLAN, 2002).

SILVA & DUARTE (2002) afirmam que, no Brasil, existem várias dificuldades associadas à erradicação de *Salmonella* Enteritidis em galinhas. Entre elas, verifica-se o seguinte: a ocorrência de *Salmonella* Enteritidis tem pouco ou

nenhum impacto na produtividade das granjas; os programas de controle e erradicação são complexos e de custo elevado; há pouca consciência de que a erradicação de *Salmonella* Enteritidis das granjas causará redução nos surtos humanos e existe uma grande dificuldade dos organismos oficiais na operacionalização dos programas de controle e erradicação.

A erradicação de *Salmonella* Enteritidis em propriedades avícolas é, praticamente, impossível, devido aos custos serem elevados, além do que não existe garantia de que todo o produto processado se encontrará livre de *Salmonella* spp. (CERVANTES, 1994), mas pode-se trabalhar no sentido de minimizar sua presença nas granjas (BERCHIERI JÚNIOR, 1999). Muitas propostas de estratégias para reduzir o risco de transmissão de *Salmonella* Enteritidis para humanos têm enfatizado a importância do controle da infecção em lotes de poedeiras comerciais.

### 3 JUSTIFICATIVA

No Brasil, encontram-se relatos da presença de *Salmonella* em carcaças de frangos e alimentos preparados com ovos. Contudo, no Ceará, não obstante, estudos epidemiológicos envolvendo este gênero são pouco freqüentes, principalmente nas aves destinadas à postura de ovos comerciais.

Em virtude do exposto, este trabalho teve como justificativa verificar a presença de *Salmonella* spp. em galinhas poedeiras e enterobactérias em amostras de ovos destinados ao consumo humano coletados de empresas e supermercados da Região Metropolitana de Fortaleza-Ceará, desde a chegada do lote de pintinhas nas granjas até a chegada dos ovos para o consumo em supermercados, com a respectiva tipificação, com o intuito de estabelecer programas de controle sanitário mais eficientes, para combater tal enfermidade.

#### 4 HIPÓTESE CIENTÍFICA

Os ovos são veiculadores de diversas bactérias, principalmente do gênero *Salmonella*. Os lotes de poedeiras comerciais das empresas avícolas e os ovos para consumo humanos das mesmas empresas, comercializados em diferentes supermercados da Região Metropolitana de Fortaleza estão contaminados com *Salmonella* spp.

## 5 OBJETIVOS

### 5.1 Objetivo Geral

Isolar e tipificar *Salmonella* spp., de caixas de transporte de pintinhas, fezes e ovos, em lotes de galinhas poedeiras e enterobactérias em de ovos destinados ao consumo humano da Região Metropolitana de Fortaleza-Ceará.

### 5.2 Objetivos Específicos

Conhecer o *status* sanitário referente à contaminação por *Salmonella* spp. das pintinhas de postura, no momento da chegada nas granjas de postura comercial da Região Metropolitana de Fortaleza-Ceará;

Acompanhar a possível contaminação dos lotes de postura comercial por *Salmonella* spp. e verificar qual(s) fase(s) da produção é mais susceptível(s) à contaminação;

Determinar quais os sorotipos de *Salmonella* spp. prevalentes nas poedeiras comerciais da Região Metropolitana de Fortaleza.

Verificar se os lotes positivos para *Salmonella* spp., na cultura de fezes, apresentam contaminação dos ovos;

Avaliar as condições sanitárias referentes à contaminação por *Salmonella* spp., em ovos destinados ao consumo humano comercializados em diferentes supermercados da Região Metropolitana de Fortaleza;

Fazer um monitoramento microbiológico para enterobactérias em ovos de poedeira comercial de empresas e supermercados da Região Metropolitana de Fortaleza.

## 6 CAPÍTULO I

### **Monitoramento bacteriológico para *Salmonella* spp. em poedeira comercial na recria e produção de empresas avícolas da Região Metropolitana de Fortaleza-CE, Brasil**

(*Salmonella* sp. bacteriology monitoring in laying hens at different growing and laying periods from poultry farms in Metropolitan Region of Fortaleza-CE, Brazil

**Aceito para publicação no periódico Ciência Animal Brasileira**

#### **RESUMO**

O presente trabalho objetivou investigar a presença de *Salmonella* em lotes de poedeiras comerciais de oito empresas da Região Metropolitana de Fortaleza-CE, Brasil. Foram realizados suabes em cinco caixas de transporte por lote das oito empresas analisadas, totalizando 40 amostras de mecônio, sendo todas negativas para *Salmonella*. Os mesmos lotes (oito) foram monitorados às 10, 20, 30 e 40 semanas de idade com exame bacteriológico de “pool” de 100 fezes frescas. Foram isoladas *Salmonella enterica* subespécie *enterica* cepa rugosa e *Salmonella* Newport das amostras de fezes nas empresas 2 e 6 às 20 e 40 semanas de idade respectivamente. A presença de *Salmonella* em 6,25 % das amostras de fezes sugere que as aves foram contaminadas após sua chegada nas granjas, pois os mesmos lotes foram negativos na análise de mecônio. Das empresas analisadas, 2 foram positivas para *Salmonella* no “pool” de fezes, mostrando a necessidade de programa preventivo mais eficaz nas empresas produtoras de ovos. Nossos estudos indicam que não houve transmissão vertical, porém existem falhas no programa de biossegurança já que as aves se contaminaram após sua chegada nas empresas.

Palavras Chaves: *Salmonella*; galinhas; ovos; bacteriologia; fezes.

## ABSTRACT

This work aimed to verify *Salmonella* occurrence in laying hen flocks from eight poultry farms in Metropolitan Region of Fortaleza city. Swab collections were performed in transport boxes of day-old-chicks, totaling 40 feces samples (5 samples/flock), which presented no *Salmonella* contamination. Bacterial analyses from a pool of feces were performed in the same flocks at 10, 20, 30 and 40 weeks of age. *Salmonella enterica* rough strain and *Salmonella* Newport were found in two flocks at 20 and 40 weeks of age, respectively. These results suggest that the birds were infected with *Salmonella* after their arrival in the poultry farms. It was verified that 2 poultry farms presented positive feces samples for *Salmonella* contamination, indicating the need for a more efficacious preventive program in the poultry farms for egg production. This work suggests that day old birds were of *Salmonella* contamination which indicates no vertical *Salmonella* transmission, however the rearing phase present failures regarding bacterial control.

Key words: *Salmonella*; chickens, eggs, bacteriology; feces

## INTRODUÇÃO

As infecções alimentares têm sido reconhecidas como um problema de saúde pública, sendo a salmonelose, uma das zoonoses de maior prevalência nos países desenvolvidos e em desenvolvimento. A salmonelose, causada por microrganismos do gênero *Salmonella*, é considerada uma das enfermidades mais problemáticas para a saúde pública, sendo um dos gêneros bacterianos mais estudados microbiologicamente (NASCIMENTO *et al.*, 2000). Os alimentos de origem animal podem veicular microrganismos patogênicos, como o *Campylobacter jejuni* e *Salmonella* spp., responsáveis por parcela de ocorrências de toxinfecções alimentares, embora no Brasil não haja dados estatísticos definidos, a incidência de toxinfecções é elevada, sendo esses microrganismos frequentemente isolados de produtos avícolas (CARVALHO & CORTEZ, 2003).

As salmonelas continuam sendo um grave problema para a avicultura industrial e, conseqüentemente, para a saúde pública (TESSARI *et al.*, 2003). O risco de insegurança alimentar tem gerado uma redução no consumo de produtos avícolas e outros produtos de origem animal (RICHARDSON, 2005).

A análise epidemiológica das doenças infecciosas está sedimentada em alguns parâmetros constituintes da história natural das ocorrências. Assim um dos aspectos fundamentais do problema, reside no isolamento e identificação do agente etiológico (HOFER *et al.*, 1997).

Particularizando as salmonelas aviárias, esta condição propicia em primeiro plano o conhecimento da incidência ou prevalência dos sorovares de *Salmonella*, possibilitando, posteriormente, estabelecer confrontos de suas freqüências em diversas regiões, bem como o rastreamento dos sorotipos predominantes, visando à implantação de medidas preventivas ou de controle (SNOEYENBOS & WILLIAMS, 1991).

No Brasil são escassos os levantamentos sobre a presença de *Salmonella* em ovos comerciais (LANGONI *et al.*, 1995) e a presença de *Salmonella* Enteritidis foi detectada pela primeira vez, em matrizes pesadas jovens, no ano de 1989 (FERREIRA *et al.*, 1990). A *Salmonella* é excretada através das fezes sendo a

cloaca a via de passagem durante a oviposição, dessa forma o estudo da microbiota fecal é muito importante para evitar a disseminação deste patógeno às aves industriais e problemas de saúde pública. As aves excretam  $10^8$  células de *Salmonella* por grama de fezes (BRYAN & DOYLE, 1995) contaminando rapidamente as aves dentro do lote (BERNDTSON *et al.*, 1996). Do ponto de vista estritamente bacteriológico, o conhecimento da prevalência de sorotipos de *Salmonella* numa determinada fonte de infecção ou região geográfica, propicia uma economia de tempo e de material empregados no diagnóstico das estruturas antigênicas por parte de laboratórios locais (HOFER *et al.*, 1997).

No Estado do Ceará não existem trabalhos sobre a incidência de *Salmonella* em lotes de poedeiras comerciais e todo programa de controle de doenças infecciosas é baseado no conhecimento das vias de introdução e disseminação do patógeno, desta forma, esse trabalho teve por objetivo verificar a ocorrência de *Salmonella* em poedeiras comerciais, desde a chegada das pintainhas nas granjas até as 40 semanas de idade de empresas avícolas da Região Metropolitana de Fortaleza-CE através de amostras de mecônio e fezes.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Foram monitoradas oito empresas de postura comercial, localizadas na Região Metropolitana de Fortaleza-Ce, no período de agosto de 2004 a janeiro de 2006. A pesquisa foi realizada em amostras de mecônio e fezes em diferentes idades das aves, sendo acompanhado um lote de cada empresa, escolhido, aleatoriamente. Nas pintainhas recém chegadas à granja foi coletado o mecônio por meio de suabes de gaze embebidos em Água Peptonada os quais foram passados no fundo de cinco caixas de transporte, por lote, perfazendo um total de 40 amostras. Após esta primeira análise, os mesmos lotes (oito) foram submetidos à coleta constituída de “pool” de 100 fezes frescas coletadas do galpão, abaixo das gaiolas. As fezes foram colhidas, de forma asséptica, por espátula esterilizada e depositadas em frascos estéreis, onde foram transportadas sob refrigeração ao laboratório de análises. O monitoramento microbiológico das fezes de cada lote foi

realizado quando as aves tinham 10, 20, 30 e 40 semanas de idade, totalizando quatro amostras para cada lote e perfazendo um total de 32 amostras de “pool” de 100 fezes.

O procedimento bacteriológico adotado para isolamento e identificação de *Salmonella* seguiu as recomendações da Organização Mundial de Saúde (OMS) com algumas modificações, sendo composto pelas seguintes etapas: pré-enriquecimento, no qual o suabe de mecônio e as fezes foram adicionados em Erlenmeyer contendo 100 mL e 225 mL de água peptonada, respectivamente e incubados a 37°C por 24 horas. Alíquotas de 1 mL e 0,1 mL da cultura pré-enriquecida foram transferidas para tubos contendo 10 mL de Caldo Selenito e Rappaport Vassiliadis respectivamente, incubando-se ambos os meios a 37°C por 24 horas. A partir do cultivo nos caldos de enriquecimento seletivo as amostras foram semeadas com alça de platina em placas contendo Ágar MacConkey e Verde Brilhante sendo incubadas a 37°C por 24 horas. Três a cinco colônias com crescimento sugestivo do gênero *Salmonella* obtidas das placas foram semeadas com auxílio de agulha de níquel-cromo para tubos contendo Ágar inclinado TSI (Triple Sugar Iron), LIA (Lisina Iron Agar) e tubos com meio SIM (Sulphide Indol Motility) os quais foram incubados a 37°C por 24 horas para identificação presuntiva. As colônias com comportamento bioquímico característico do gênero *Salmonella* nesses meios foram submetidas ao teste de aglutinação em placa com soros anti flagelar H e anti somático O de *Salmonella*. As amostras com reações positivas foram conservadas em Ágar Nutriente e remetidas ao Instituto Adolfo Lutz, em São Paulo, para sorotipagem.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi detectada *Salmonella* nas 40 amostras de mecônio analisadas, provenientes das oito empresas. GAMBIRAGI *et al.* (2003) também não detectaram *Salmonella* em suabe de cloaca de 300 pintos de corte de um dia de idade. Do mesmo modo OLIVEIRA *et al.* (2004) avaliando a presença de enterobactérias em dez lotes de frango de corte de explorações industriais do Estado do Ceará, não

isolaram *Salmonella* em sua pesquisa. Todavia ZANCAN *et al.* (2000) isolaram *Salmonella* (44,45 %) em caixas de transporte de cinco granjas de poedeiras em seis analisadas, bem como GAMA *et al.* (2003) que pesquisando *Salmonella* em caixas de transporte de 12 lotes de poedeiras isolaram em quatro lotes (33,3 %) *Salmonella* Enteritidis no Estado de São Paulo. ROCHA *et al.* (2003) estudando caixas de transporte de 18 lotes de poedeiras em três empresas diferentes observaram que de 180 amostras, 20 foram positivas para *Salmonella* representando um percentual de 11 %.

Os resultados obtidos, no presente estudo, sugerem que não ocorreu transmissão vertical, já que todas as amostras de mecônio foram negativas para *Salmonella*. Segundo GAST (1997) o primeiro passo para prevenir a introdução de *Salmonella* em granjas é evitar a transmissão vertical, portanto, qualquer falha no programa de biossegurança levará a uma contaminação da progênie e lotes livres de contaminação dependem de um controle rígido e eficaz dentro dos programas sanitários de matrizes que reflete de forma positiva na saúde dos pintinhos (TESSARI *et al.*, 2003; ROCHA *et al.*, 2003). A transmissão vertical, como via introdutória de *Salmonella* em criações avícolas pode ser confirmada pelas análises de forros de caixa de transporte (ROCHA, 2003) e os resultados do presente trabalho indicam que houve um controle sanitário adequado nas granjas de reprodutoras e nos incubatórios fornecedores das aves utilizadas nessa pesquisa.

De acordo com os dados obtidos, podemos verificar que das 32 amostras de “pool” de fezes avaliadas, duas apresentaram positividade para *Salmonella*, resultando numa incidência de 6,25 % das amostras processadas. Após a tipificação, foi observada a presença da *Salmonella enterica* subespécie *enterica* cepa rugosa e *Salmonella* Newport para os lotes positivos da empresa 2 e 6 respectivamente. Com esses resultados se faz necessário uma maior atenção em dois aspectos sanitários importantíssimos na avicultura industrial que são as medidas de biossegurança e a resistência aos agentes antimicrobianos. Em relação ao primeiro aspecto, a *Salmonella* pode ter ocorrido em decorrência às falhas no manejo sanitário. Diversos estudos indicam que a contaminação da ração tem um alto impacto na incidência de colonização do ceco por *Salmonella* (RICHARDSON, 2005). GAMA (2001) isolou em fezes de poedeiras *Salmonella enterica* cepa rugosa e atribuiu essa infecção ao consumo de ração contaminada. Vários autores (DAVIES

& BRESLIN, 2003; GRADEL *et al.*, 2004) consideram a persistência de contaminação dos lotes de poedeiras comerciais nas granjas um problema predominante. Nos Estados Unidos, de janeiro a abril de 2002, isolou-se *Salmonella* Newport em 47 pessoas com sintomas de diarreia, dor abdominal, febre e vômito (ZANSKY *et al.*, 2002). Outra grande preocupação está relacionada à resistência bacteriana, pois casos de multi-resistências relacionados à *Salmonella* Newport têm sido relatados em homens e animais (DUNNE, 2000), e são decorrentes do uso indiscriminado de agentes antimicrobianos (ZHAO *et al.*, 2003).

Os resultados microbiológicos, das amostras de “pool” de fezes dos lotes das oito empresas estão representados na tabela 1.

Tabela 1. Relação entre número de lotes examinados (amostras de fezes) e lotes positivos para *Salmonella* durante o período de agosto de 2004 a janeiro de 2006.

Empresa	<i>Salmonella</i>	Amostras positivas (n)	Sorotipo
1	Ausente	0/4	-
2	Presente*	1/4	<i>Salmonella enterica</i> sub. <i>enterica</i> cepa rugosa
3	Ausente	0/4	-
4	Ausente	0/4	-
5	Ausente	0/4	-
6	Presente**	1/4	<i>Salmonella</i> Newport
7	Ausente	0/4	-
8	Ausente	0/4	-
Total	-	2/32	-

\* 20 semanas de idade

\*\* 40 semanas de idade

SOUZA *et al.* (2002) registraram, após estudo epidemiológico em fezes de poedeiras, a presença de *Salmonella* antes e após a muda forçada, observando que as empresas avícolas devem considerar a possibilidade de contaminação através das fezes. GAMA (2001) estudando galinhas destinadas à postura comercial, desde a chegada do lote de pintainhas até a fase de produção, verificou que a transmissão vertical continua sendo uma importante via de introdução de salmonelas paratíficas nas granjas e que lotes de aves naturalmente infectadas produziram ovos contaminados, porém alguns autores afirmam que não existe nenhuma correlação entre a eliminação de *Salmonella* nas fezes e a frequência de contaminação do ovo

(GAST *et al.*, 2005). GAST & BEARD (1992) afirmaram que fezes contaminadas com *Salmonella* Enteritidis podem sugerir a contaminação do ovo, pois observaram uma relação positiva entre fezes de galinhas artificialmente contaminadas e a casca dos ovos e de acordo com MORRIS (1990) a contaminação ocorre pelo contato das cascas dos ovos.

## **CONCLUSÃO**

Nossos estudos indicam que não houve transmissão vertical e a contaminação por *Salmonella* ocorreu após a chegada das pintainhas nas granjas, mostrando que houve falhas no programa de biossegurança e que há necessidade de desenvolvimento de programa sanitário preventivo eficaz.

## **AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio essencial proporcionado para o desenvolvimento desse trabalho e ao Laboratório de Estudos Ornitológicos – LABEO/FAVET/UECE.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERNDTSON, E.; EMANUELSON, U.; ENGVALL, A.; DANIELSSON-THAN, M.L. A 1-year epidemiological study of *Campylobacter* in 18 Swedish chicken farms. **Preventive Veterinary Medicine**. v.26, n.3, p.167-185, 1996.

BRYAN, F.L.; DOYLE, M.P. Healthy risks and consequences of *Salmonella* and *Campylobacter jejuni* in raw poultry. **Journal of Food Protection**. v.58, n.3, p.326-344, 1995.

CARVALHO, A.C.F.B.; CORTEZ, A.L.L. Contaminação de produtos avícolas industrializados e seus derivados por *Campylobacter jejuni* e *Salmonella* sp. **ARS Veterinária**. v.19, n.1, p.057-062, 2003.

DAVIES, R ; BRESLIN, M. Observations on *Salmonella* contamination of commercial laying farms before and after cleaning and disinfection. **Veterinary Record** . v.152, p. 283-287, 2003.

DUNNE, E. F.; FEY, P. D.; KLUEDT, P.; REPORTER, R.; MOSTASHARI, F.; SHILLAM, P.; WICKLUND, J.; MILLER, C.; HOLLAND, B.; STAMEY, K.; BARRETT, T. J.; RASHEED, J. K.; TENOVER, F. C.; RIBOT, E. M. ; ANGULO, F. J. Emergence of domestically acquired ceftriaxone-resistant *Salmonella* infections associated with ampC beta-lactamase. **Journal of the American Medical Association**. v.284, n.24; p.3151–3156, 2000.

FERREIRA, A.J.P.; ITO, N.M.K., BENEZ, S.M. Infecção natural e experimental por *Salmonella enteritidis* em pintos. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS. Campinas, FACTA, **Anais...** Campinas: FACTA, 1990. p.171.

GAMA, N.M.S.Q. ***Salmonella* spp. em aves de postura comercial**. Jaboticabal, São Paulo, 2001. 58p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Universidade Estadual Paulista (UNESP).

GAMA, N.M.S.Q; BERCHIERI JR., A; FERNANDES, S.A. Occurrence of *Salmonella* sp in laying hens. **Brazilian Journal of Poultry Science**. v.5, n.12, p.15-21, 2003.

GAMBIRAGI, A.P.O.M.; SALLES, R.P.R.; AGUIAR FILHO, J.L.; CARDOSO, W.M.; OLIVEIRA, W.F.; ROMÃO, J.M.; TEIXEIRA, R.S.C. *Salmonella* sp. em frangos de corte de um dia de idade na região metropolitana de Fortaleza-Ce. **Acta Scientiae Veterinariae**. v.31, n.2, 2003.

GAST, R. K.; GUARD-BOULDIN, J.; HOLT, P.S. The Relationship Between the Duration of Fecal Shedding and the Production of Contaminated Eggs by Laying Hens Infected with Strains of *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Heidelberg. **Avian Diseases**. v.49, n.3, p.382–386, 2005.

GAST, R.K.; BEARD, C.W. Detection and enumeration of *Salmonella* enteritidis in fresh and stored eggs laid by experimentally infected hens. **Journal of Food Protection**. v.55, p.152-156, 1992.

GAST, R.K. *Salmonella* infectious. In: CALNEK, B.W.; BARNES, H.J.; BEARD, C.W.; McDOULGALD, L.R.; SAIF, Y.M. (eds.). **Diseases of Poultry**. 10 ed. Ames: Iowa State University. Press, 1997. p.89-129.

GRADEL, K.O.; SAYERS, A.R.; DAVIES, R.H. Surface disinfection tests with *Salmonella* and a putative indicator bacterium, mimicking worst-case scenarios in poultry houses. **Poultry Science**. v.83, p.1636-1643, 2004.

HOFER, E.; SILVA FILHO, S.J.; REIS, E.M.F. Prevalência de sorovares de *Salmonella* isolados de aves no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.17, p.55-62, 1997.

LANGONI, H.; PRADO, R.A.T.; PINTO, P.A.N.; BALDINI, S.; PIMENTEL, V.L. Isolamento de salmonelas em ovos de galinha oferecidos no comércio de Botucatu – SP. **Higiene Alimentar**. v.9, p.45-47, 1995.

MORRIS, G.K. *Salmonella* enteritidis and eggs: assessment of risk. **Dairy, Food and Environmental Sanitation**. v.10, n.5, p.279-281, 1990.

NASCIMENTO, M.S.; BERCHIERI JUNIOR, A.; BARBOSA, M.D.; ZANCAN, F.T.; ALMEIDA, W.A.F. Comparação de meios de enriquecimento e de plaqueamento na pesquisa de *Salmonella* em carcaças de frango e fezes de aves. **Brazilian Journal of Poultry Science**. v.2, n.1, p.85-91, 2000.

OLIVEIRA, W. F.; MACIEL, W. C.; MARQUES, L. C. L.; SALLES, R. P. R.; AGUIAR FILHO, J. L. C.; TEIXEIRA, R. S. C.; ROMÃO, J. M.; LIMA, A. C. P. Utilização de diferentes meios de cultura para o isolamento de enterobactérias em amostras fecais de frango de corte procedentes de exploração industriais do Estado do Ceará, Brasil. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**. v.99, n.522, p.211-214, 2004.

RICHARDSON, K. Impacto da qualidade microbiológica da ração na contaminação de ovos e carcaças. In: IV SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE AVES E SUÍNOS - AVESUI. Florianópolis-SC, 2005. Disponível em <http://www.cnpsa.embrapa.br/aceso> em 12 de julho de 2007.

ROCHA, P.T.; MESQUITA, A.J.; ANDRADE, M.A.; LOULY, P.R ; NASCIMENTO, M.N. Salmonella spp. in paper pads of chick boxes and organs of one-day-old-chicks. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.55, n.6, p.672-676, 2003.

SNOEYENBOS, G.H.; WILLIAMS, J.E. Salmonellosis. In: CALNEK, B.W.; BARNES, H.J.; BEARD, C.W.; REID, W.M ;YODER, H.W. (ed) Diseases of Poultry. 9 ed. Ames: Iowa State University Press, 1991, p.73-86

SOUZA, E.R.N.; CARVALHO, E.P.; DIONÍZIO, F.L. Estudo da presença de *Salmonella sp.* em poedeiras submetidas à muda forçada. **Ciência e Agrotecnologia**. v.26, n.1, p.140-147, 2002.

TESSARI, E.N.C.; CARDOSO, A.L.P.S.; CASTRO, A.G.M.; ZANATTA, G.F., KANASHIRO, A.M.I. Incidência de *Salmonella* pintos de corte recém-nascidos. **Arquivos do Instituto Biológico**. v.70, n.3, p.279-281, 2003.

ZANCAN, F. T.; BERCHIERI JUNIOR, A.; FERNANDES, S.A; GAMA, N.M.S.Q. Salmonella spp investigation in transport boxes of day-old birds. **Brazilian Journal of Microbiology**. v.31, n.3, p.229-232, 2000.

ZANSKY, S; WALLACE, B.; SCHOONMAKER-BOPP, D.; SMITH, P.; RAMSCY, P.; PAINTER, J.; GUPTA, A.; KALLURI, P.; NOVIELLO, S. Outbreak of Multidrug-Resistant *Salmonella* Newport --- United States, January-April 2002. *MMWR* 51: 545-548, 2002.

ZHAO, S.; QAIYUMI, S.; FRIEDMAN, S.; SINGH, R.; FOLEY, S. L.; WHITE, D. G.; MCDERMOTT, V; DONKAR, T.; BOLIN, C.; MUNRO, S.; BARON, E. J.; WALKER, R. D. Characterization of Salmonella enterica Serotype Newport Isolated from Humans and Food Animals. **Journal of Clinical Microbiology**. v.41, n.12, p.5366–5371, 2003.

## 7 CAPITULO II

*Salmonella* and other enterobacteria survey in chicken eggs for human consume in the Metropolitan Region of Fortaleza, Brazil.

**Pesquisa de *Salmonella* e outras enterobactérias em ovos para consumo humano na Região Metropolitana de Fortaleza, Brasil**

**Enviado para a revista Brazilian Journal of Poultry Science**

Salles RPR, Cardoso WM, Teixeira RSC, Romao JM, Siqueira AA, Silva EE, Nogueira GC, Moraes TGV, Sousa FM

Veterinary College, Ceara State University

\* Author for correspondence

William Maciel Cardoso

Av. Rogaciano Leite, 200, Aptº 1303, Bl. Tulipe, Bairro Salinas

CEP. 60.810-000 Fortaleza – Ceará, Brasil

Telefone: 85 3241 1307 ou 3101 9848 ou 9989 47 42

e-mail: [william.maciel@uol.com.br](mailto:william.maciel@uol.com.br)

## RESUMO

### **Pesquisa de *Salmonella* e outras enterobactérias em ovos para consumo humano na região metropolitana de Fortaleza, Brasil**

Pesquisou-se a presença de *Salmonella* e outras enterobactérias em ovos de galinha para consumo humano provenientes de granjas produtoras de ovos e supermercados localizados na Região Metropolitana de Fortaleza. Foram coletados 720 ovos de oito granjas produtoras e 540 ovos de seis supermercados. Os ovos foram quebrados e homogeneizados sendo submetidos ao pré-enriquecimento com Água Peptonada, seguido pelo enriquecimento com Rappaport-Vassiliadis e Seletino-Cistina, plaqueados em Ágar Verde Brilhante e MacConkey. Posteriormente submetidos à identificação bioquímica presuntiva. Não foi encontrada *Salmonella* nas amostras de ovos provenientes de granjas produtoras nem de supermercados, entretanto foram encontradas outras enterobactérias potencialmente patogênicas para o ser humano: *Citrobacter*, *E.coli*, *Providencia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Serratia*, *Pseudomonas* e *Shigella*. Também foi verificado que a frequência de isolamentos de enterobactérias foi maior em ovos dos supermercados em comparação com os ovos provenientes das granjas produtoras, provavelmente pela ocorrência de maior manipulação nos ovos que estavam nos supermercados.

**Palavras-chave:** enterobactérias, microbiologia, ovos, *Salmonella*

## ABSTRACT

This research has the objective of performing *Salmonella* and other enterobacteria survey in chicken eggs for human consume from poultry farm flocks and supermarkets in the Metropolitan region of Fortaleza, Brazil. A total number of 720 eggs were collected from eight egg-type poultry farms and 540 eggs were collected from six supermarkets in the Metropolitan Region of Fortaleza. The eggs were broken and homogenized and they were submitted to pre-enrichment with buffered peptone water, followed by enrichment with Rappaport-Vassiliadis and Selenite-Cystine, streaked on plates with Brilliant Green and MacConkey agars, and to presumptive biochemical identification. The results showed that it was not found *Salmonella* in the egg samples from poultry farms and supermarkets, however a great amount of other potentially pathogenic enterobacteria were isolated in egg samples: *Citrobacter*, *Escherichia coli*, *Providencia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Serratia*, *Pseudomonas*, and *Shigella*. It was also verified that the frequency of enterobacteria isolated was higher in eggs from supermarkets compared to eggs collected from poultry farm, probably by an increased manipulation of the eggs until they get the supermarkets.

**Key words:** eggs, enterobacteria, microbiology, *Salmonella*

## INTRODUCTION

Microbial food safety is an increasing public health concern worldwide. It is estimated that each year in the United States there are approximately 76 million foodborne illnesses (Mead *et al.*, 1999). Enterobacteria like *Campylobacter*, *Salmonella*, and pathogenic *Escherichia coli* can colonize the gastrointestinal tract of a wide range of wild and domestic animals, especially animals raised for human consumption (Meng & Doyle, 1998). The level of *enterobacteria* in poultry products can be routinely used as an indicator of improper hygiene methods during processing and incorrect storage conditions, which can lead to the proliferation of pathogens, such as *Salmonella*, and toxin production (Roberts *et al.*, 1995).

Salmonellosis is one of the most frequent foodborne diseases, being an important public health problem in almost all industrialized countries (D'Aoust, 1997). According to the Centers for Disease Control and Prevention in United States, *Salmonella* is responsible for 1.34 million of cases of disease, 16,430 hospitalizations, and 582 deaths each year (Mead *et al.*, 1999).

The eggs are an important source of contamination. Between 1985 and 1996, 79 % of *S. Enteritidis* outbreaks in the United States that could be attributed to a specific food vehicle were associated with eggs (Angulo & Swerdlow, 1999). Surveys of egg-type poultry have reported the recovery of *Salmonella* from 72 % of laying house environmental samples in the United States (Jones *et al.*, 1995) and from 68 % of egg farms (Riemann *et al.*, 1998), 53 % of fecal or egg belt samples in Canada (Poppe *et al.*, 1991), and 47 % of fecal samples in the Netherlands (Van de Giessen *et al.*, 1991). In two studies of unpasteurized liquid egg samples collected at 20 eggbreaking plants throughout the United States (Hogue *et al.*, 1997), *Salmonella*

were found in 52 % of samples obtained in 1991 and in 48 % of samples obtained in 1995. The U.S. Department of Agriculture has estimated the overall national incidence of egg contamination with *S. Enteritidis* at approximately 0.005 % (Ebel & Schlosser, 2000).

This way, this research has the objective of performing *Salmonella* and other enterobacteria survey in chicken eggs for human consume from poultry farm flocks and supermarkets in the metropolitan region of Fortaleza, Brazil.

## **MATERIAL AND METHODS**

### **Egg collection from poultry farms**

A total number of 720 eggs was obtained and distributed into 72 samples, each sample consisted of 10 eggs. They were collected from eight egg-type poultry farms in the Metropolitan Region of Fortaleza, Brazil. In each poultry farm, the eggs were collected from the same flocks at three different ages, when the chickens were 20, 30 and 40 week-age. Egg collections were performed with sterile gloves. They were randomly collected and maintained under refrigerated temperature for up to two hours until they arrived in analyses laboratory.

### **Egg collection from supermarkets**

A number of 540 eggs was divided into 54 samples, each sample consisted of 10 eggs. They were collected from six supermarkets in the Metropolitan Region of Fortaleza, Brazil. Three different egg brands were randomly chosen in each supermarket and for each brand, 30 eggs in commercial trays were collected. All collected eggs had been under adequate storage conditions and they had

presented good external characteristics for human consume. After collection, they were maintained under refrigerated temperature for up to two hours until they arrived in analyses laboratory.

### **Microbiological analyses**

Eggs were divided into samples of 10 eggs each, just after arrival. The eggs were broken and homogenized in glass jars by agitation. Aliquots of 25g from each sample were weighted and submitted to pre-enrichment with buffered peptone water and incubated for 24 hours at 37°C. Aliquots from pre-enrichment were inoculated into selective enrichment liquid media at a ratio of 1/100 in Rappaport-Vassiliadis broth and at 1/10 in Selenite-Cysteine broth.

A loopful of each broth was streaked on plates of MacConkey agar and Brilliant Green agar plus Novobiocin (40 mg/L). The temperature and the period of incubation were standardized at 37°C for 24 hours. Three to five suspected colonies of *Salmonella* from each plate were collected for presumptive biochemical identification with Triple Sugar Iron (TSI), Lysine-Iron agar (LIA) and Sulfur Indol Motility agar (SIM), then they were incubated for the same time and temperature according to Gama *et al.*, 2003.

The colonies which were suspect for *Salmonella* were replicated in Nutrient Agar and sent to enterobacteria department in Instituto Adolfo Lutz for characterization.

## RESULTS AND DISCUSSION

It was not found *Salmonella* in the egg samples from poultry farms and supermarkets from Metropolitan Region of Fortaleza. These results were different to the ones observed by Andrade *et al.* (2004), who found no *Salmonella* in eggs from supermarkets and 0.37 % *Salmonella* contamination in eggs from poultry farms in Goiania, Brazil.

The incidence of contaminated eggs from layer chickens is relatively low even after an administration of *Salmonella* to the birds (Gast & Holt, 2001; Gast *et al.* 2002). According to Ebel & Schlosser (2000), the prevalence of *Salmonella* contaminated eggs from naturally infected flocks in United States was estimated to be 0.005 %.

Feces are an important contamination source for food, however the *Salmonella* spread on feces is not continuous, this way it is possible to obtain negative or low levels of *Salmonella* from egg shells or its internal contents (Humphrey *et al.*, 1989). Experimentally or naturally infected layers can lay eggs with contaminated internal content (Gast & Beard, 1990; Gast & Holt, 2000), however *Salmonella* surveys are not necessarily successful (Bezerra, 1995).

Despite absence of *Salmonella* isolations, other enterobacteria were isolated in eggs from poultry farms and supermarkets. Contamination of poultry products by enterobacteria is one of the greatest problems regarding world food industry, and animal feces are their main contaminating source (Rasmussen *et al.*, 2004). Oliveira *et al.* (2004) verified the following frequency of enterobacteria in broiler feces: *Proteus* sp., 86.7 %; *Arizona* sp., 6.7 %; *Enterobacter* sp., 66.7 %;

*Citrobacter* sp., 6.7 %; *Edwardsiella* sp., 3.3 %; *Escherichia coli*, 60 %; *Klebsiella* sp., 6.7 %; and *Shigella* sp., 13.3 %.

Figure 1 shows the percentage of contaminated eggs with each enterobacteria isolated in eggs from supermarkets in Metropolitan Region of Fortaleza, Brazil.

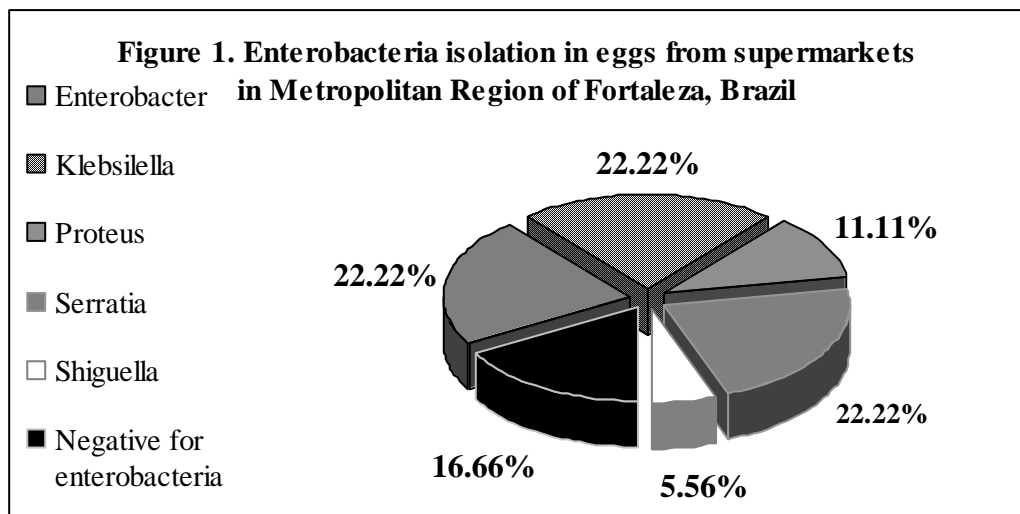
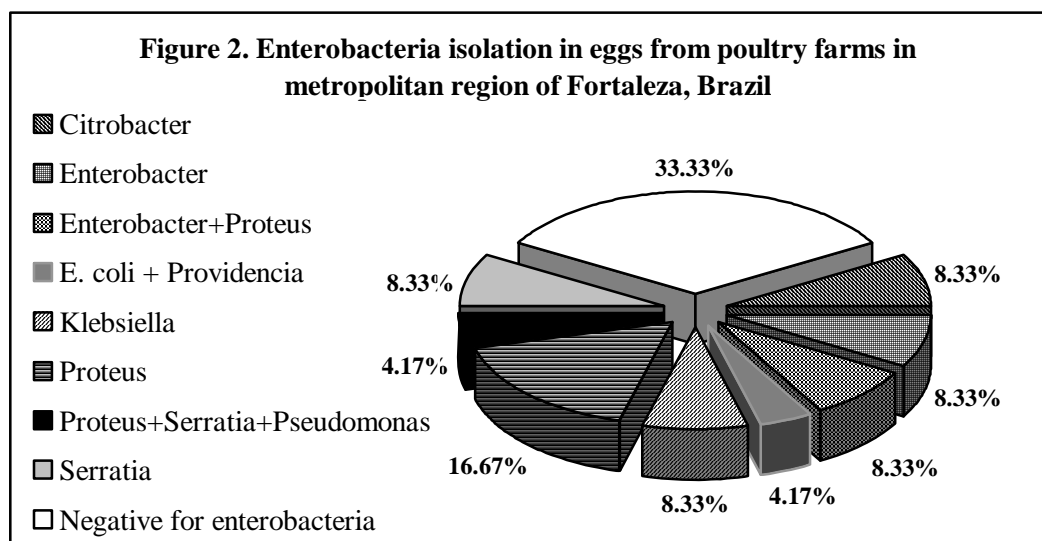


Figure 2 shows the percentage of contaminated eggs with each enterobacteria isolated in eggs from poultry farms in Metropolitan Region of Fortaleza, Brazil.



The results showed that eggs collected from poultry farms presented a lower enterobacteria contamination when compared to eggs from supermarkets. It was verified 66.6 % of eggs from poultry farms were contaminated while 83.34 % of eggs from supermarket were positive for enterobacteria. The difference of 16.74 % between these places was probably due to manipulation of eggs from poultry farms to supermarkets.

The most isolated bacteria in eggs from both poultry farms and supermarkets were *Proteus*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, and *Serratia* with 14.29 % frequency.

The role of *Proteus* sp. in foodborne diseases is a controversy, despite its potential as a pathogen. According to Franco & Landgraf (1996), *Proteus* spp is related with food deterioration and its presence is not directly related to infections, but as a contaminant agent. It is involved in the decomposition of carcasses and can be found in feces, sewer water, putrefied meat, suppurating wounds, among others (Bier, 1981).

Species of *Enterobacter* have been associated with rare cases of infantile meningitis, newborn death and bacteremia. This genus has been often isolated from food, such as: meat, cheese, vegetables and condiments (Lai, 2001; Iversen & Forsythe, 2003).

Other enterobacteria showed a lower frequency of isolation, like: *Shigella*, *Citrobacter*, *Providencia*, *E. coli*, *Pseudomonas*.

Bacteria of the genus *Shigella* were isolated in the present study. They are responsible for the shigellosis or bacillary dysentery, involving invasion and

destruction of the epithelial layer of the mucosa causing intense inflammatory reaction (Campos, 2002).

*Shigella* infections remain a global public health concern, causing diarrhea in both the developing and developed regions (Guerrant *et al.*, 1990). The bacteria are readily transmitted through the fecal-oral route, with the majority of illnesses arising through the consumption of fecally contaminated food and water. Poor personal hygiene and sanitation are the common sources of such food and water contaminations (Sapsford *et al.*, 2004). Mead *et al.* (1999) estimated that 20 % of the total number of cases of shigellosis involve food as the vehicle of transmission. The food involved was contaminated during handling by infected workers (Bryan, 1978).

Comparing our results to the findings of Andrade *et al.* (2004), the present study showed an increased total contamination level, while they found 40.44% of positive egg samples from Goiania, Brazil.

## **CONCLUSION**

Despite the absence of *Salmonella* isolates in eggs for human consume from poultry farms and supermarkets, there was presence of other enterobacteria potentially pathogenic for humans. It was also verified that the number of enterobacteria isolated in eggs was higher in supermarkets.

## REFERENCES

Andrade MA, Café MB, Jayme VS, Rocha PT, Leandro NSM, Stringhini JH. Avaliação da qualidade bacteriológica de ovos de galinha comercializados em Goiânia, Goiás, Brasil. *Ciência Animal Brasileira* 2004; 5:221-228.

Angulo FJ, Swerdlow DL. Epidemiology of human Salmonella enterica serovar Enteritidis infections in the United States. In Saeed AM, Gast RK, Potter ME, Wall PG. *Salmonella enterica Serovar Enteritidis in Humans and Animals*. Ames, IA: Iowa State University Press; 1999. p.33-41.

Bezerra R. Recuperação e pesquisa de Salmonella spp e detecção de anticorpos em ovos comerciais de galinha Gallus gallus [Dissertação]. São Paulo (SP): Universidade de São Paulo; 1995.

Bier O. Bactérias intestinais. In: BIER, O. (Ed.). *Bacteriologia e imunologia*. 21.ed. São Paulo: Melhoramentos, 1981; p.517-531.

Bryan FL. Factors that contribute to outbreaks of foodborne disease. *Journal of Food Protection*, 1978; 41:816.

Campos LC. Shigella. In Trabulsi , L.R.; Alterthum, F.; Gompertz, O.F.; Candeias J.A.N. (Eds). *Microbiologia*. 3.ed. São Paulo: Atheneu, 2002; p.235-238.

D'Aoust, JY. Salmonella species. In: Doyle, M.P., Beuchat, L.R., Montville, T.J. (Eds.), *Food Microbiology Fundamentals and Frontiers*. Washington, DC: ASM Press; 1997; p.129-158.

Ebel E, Schlosser W. Estimating the annual fraction of eggs contaminated with *Salmonella enteritidis* in the United States. *International Journal of Food Microbiology*, 2000; 61:51-62.

Franco BDGM, Landgraf M. *Microbiologia dos alimentos*. 2.ed. São Paulo: Atheneu, 1996.

Gama NMSQ, Berchieri JrA, Fernandes SA. Occurrence of *Salmonella* sp. in laying hens. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 2003; 5:15-21.

Gast RK, Beard CW. Detection and enumeration of *Salmonella enteritidis* – contaminated eggs by experimentally infected hens. *Avian Diseases*, 1990; 34: 438-446.

Gast RK, Holt PS. Deposition of phage type 4 and 13a *Salmonella enteritidis* strains in the yolk and albumen of eggs laid by experimentally infected hens. *Avian Diseases*, 2000; 44: 706-710.

Gast RK, Holt PS. Assessing the frequency and consequences of *Salmonella enteritidis* deposition on the egg yolk membrane. *Poultry Science*, 2001; 80: 997-1002.

Gast RK, Guard-Petter J, Holt PS. Characteristics of *Salmonella enteritidis* contamination of eggs after oral, aerosol, and intravenous inoculation of laying hens. *Avian Diseases*, 2002; 46: 629-635.

Guerrant RL, Hughes JM, Lima NL, Crane J. Diarrhea in developed and developing countries: magnitude, special settings, and etiologies. *Reviews of Infectious Diseases* 1990; 12: 41–50, Supplement 1.

Hogue AT, Ebel ED, Thomas LA, Schlosser W, Bufano N, Ferris K. Surveys of *Salmonella enteritidis* in unpasteurized liquid egg and spent hens at slaughter. *Journal of Food Protection*, 1997; 60: 1194-1200.

Humphrey TJ, Greenwood M, Gilbert RJ, Rowe B, Chapman PA. The survival of salmonellas on shell eggs cooked under simulated domestic conditions. *Epidemiology and Infection*, 1989; 103: 35-45.

Iversen C, Forsythe SJ. Risk profile of *Enterobacter sakazakii*, an emergent pathogen associated with infant milk formula. *Trends in Food Science & Technology*, 2003; 14: 443-454.

Jones FT, Rives DV, Carey JB. *Salmonella* contamination in commercial eggs and an egg production facility. *Poultry Science*, 1995; 74:753-757.

Lai KK. *Enterobacter sakazakii* infections among neonates, infants, children, and adults: case reports and a review of the literature. *Medicine Baltimore*, 2001; 80: 113-122.

Mead PS, Slutsker L, Dietz V, Mccaig LF, Bresee JS, Shapiro C, Griffin PM, Tauxe RV. Food-related illness and death in the United States. *Emerging Infectious Diseases*, 1999; 5: 607-625.

Meng J, Doyle MP. Emerging and evolving microbial foodborne pathogens. *Bulletin de L' Institute Pasteur*, 1998; 96: 151-164.

Oliveira WF, Cardoso WM, Marques LCL, Salles RPR, Aguiar-Filho JLC, Teixeira RSC, Romao JM, Lima ACP. Use of different culture media to enterobacteria isolation in feces samples from industrial broiler flocks in Ceara State, Brazil. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinarias*, 2004; 99: 211-214.

Poppe C, Irwin RJ, Forsberg CM, Clarke RC, Oggel J. The prevalence of Salmonella enteritidis and other Salmonella spp. among Canadian registered commercial layer flocks. *Epidemiology and Infection*, 1991; 106:259-270.

Rasmussen MA, Casey T, Petrich JW. Meat Carcass Inspection Using The Fluorescence Of Dietary Porphyrins [abstract]. 2004 In: Annual Meeting Of The American Dairy Science Association; 2004, American Society Of Animal Science, Poultry Science Association; 2004. p.166.

Riemann H, Himathongkham S, Willoughby D, Tarbell R, Breitmeyer R. A survey for Salmonella by drag swabbing manure piles in California egg ranches. *Avian Diseases*, 1998; 42:67-71.

Roberts D, Hooper W, Greenwood M. Isolation and enrichment of microorganisms. In: Roberts D. (Ed.). *Practical food microbiology*. 2.ed. London: Public Health Laboratory Service; 1995. p.130–142.

Sapsford KE, Rasooly A, Taitt CR, Ligler FS. Detection of Campylobacter and Shigella species in food samples using an array biosensor. *Analytical Chemistry*, 2004; 76: 433-440.

Van de Giessen AW, Peters R, Berkers PATA, Jansen WH, Notermans SHW. Salmonella contamination of poultry flocks in the Netherlands. *Veterinary Quarterly*, 1991; 13: 41-46.

## 8 CONCLUSÕES

As amostras de forro de caixas de transporte de pintinhas analisadas nesse estudo foram negativas para *Salmonella*, sugerindo que não ocorreu transmissão vertical.

A contaminação por *Salmonella*, provavelmente, ocorreu após a chegada das pintinhas nas granjas, mostrando que houve falhas no programa de biossegurança.

Após a tipificação, foi observada a presença de *Salmonella enterica* subespécie *enterica*, cepa rugosa, em uma empresa, e *Salmonella* Newport, na outra empresa.

Não foi isolada *Salmonella* nas amostras de ovos nem das oito granjas nem dos seis supermercados da Região Metropolitana de Fortaleza, tendo havido, porém, presença de outras enterobactérias potencialmente patogênicas para o homem (*Citrobacter*, *E. coli*, *Providencia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Serratia*, *Pseudomonas* e *Shigella*), não só sendo o número de bactérias mais elevado nos ovos de supermercados (83,34 %) do que nos ovos de granja (66,6 %), mas também sendo a diferença de 16,74 % sugestiva de contaminação no manuseio dos ovos.

## 9 PERSPECTIVAS

Os técnicos das empresas de postura comercial da Região Metropolitana de Fortaleza precisam melhorar os programas de biossegurança durante o período de produção. Dessa forma, prejuízos relacionados à queda de produção e problemas de enterite poderão ser evitados.

Devido o isolamento de *Salmonella* Newport em uma das empresas avaliadas e como trabalhos anteriores mostram um aumento da incidência desse sorotipo nas infecções humanas, além de problemas de multiresistência, estudos futuros são necessários para verificação da resistência do sorotipo isolado.

## 10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AARESTRUP, F.M. Association between the consumption of antimicrobial agents in animal husbandry and the occurrence of resistant bacteria among food animals. **International Journal of Antimicrobial Agents**. v.12, p.279-285, 1999.

ABEF - Associação Brasileira dos Produtores e Exportadores de Frangos. ed.69. 7p. 2005. Disponível [www.abef.com.br](http://www.abef.com.br). Acesso em 22 de maio de 2005.

ABEF - Associação Brasileira dos Produtores e Exportadores de Frangos. Relatório Anual, 2006.

ADAK, G.K.; GILESPIE, I.A. *Salmonella* epidemiology in the UK and Europe. In **Proceedings of Meeting "Whiter Salmonella"**. 9, December 2004. London: Royal College of Physicians.

ADEYEMI, O.; DIPEOLU, O.O. The numbers and variety of bacteria carried by filth flies in sanitary and unsanitary city area. **International Journal Zoonosis**. v.11, p.195-203, 1984.

ALBUQUERQUE, R.; ITO, N.M.K.; MIYAJI, C.I. Estudo comparativo de diferentes meios de cultura para o isolamento de *Salmonella* spp. em matérias primas e rações. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS – trabalhos de pesquisa, 1995, Curitiba. **Anais** Campinas: FACTA, 1995. p.163-164.

ALBUQUERQUE, R.; ITO, N.M.K.; MIYAJI, C.I. Estudo comparativo de diferentes meios de cultura para o isolamento de salmonelas em matérias primas e rações. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. São Paulo, v.37, n.1, 2000.

ALDERTON, M.R.; FAHEY, K.J.; COLOE, P.J. Humoral responses and salmonella protection in chickens given a vitamin-dependent *Salmonella typhimurium* mutant. **Avian Diseases**. v.35 (3); p.435-442, 1991.

ALTEKRUSE, S.F.; COHEN, M.L.; SWERDLOW, D.L. Emerging foodborne diseases. **Emerging Infectious Diseases**. v.3, n.3, p.285-293, 1997.

AMAVISIT, P.; BROWNING, G.F.; LIGHTFOOT, D.; CHURCH, S.; ANDERSON, G.A.; WHITHEAR, K.G.; MARKHAM, P.F. Rapid PCR detection of *Salmonella* in horse faecal samples. **Veterinary Microbiology**. v.79, p.63-74, 2001.

AMY, M.; VELGE, P., SENOCQ, D.; BOTTREAU, E.; MOMPART, F.; VIRLOGEUX-PAYANT, I. Identification of a new *Salmonella enterica* serovar Enteritidis locus involved in cell invasion and in the colonization of chicks. **Research Microbiology**. v.155, p.543-552, 2004.

ANDRADE, M.A. **Inoculação de *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorovar Enteritidis fagotipo 4 em ovos embrionados de duas linhagens de frango de corte**. Goiânia, Goiás, 2005. 120p. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás.

ANDREATTI FILHO, R.L.; SILVA, E.N.; RIBEIRO, A.R.; KINDO, N.; CURI, P.R. Estudos sobre o controle da infecção de aves por *Salmonella enteritidis* com a utilização de compostos orgânicos e exclusão competitiva. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS – trabalhos de pesquisa, 1995, Curitiba. **Anais** Campinas: FACTA, 1995. p.183-184.

ANON. Microbiology – General Guidance on Methods for the Detection of *Salmonella*. International Standard Organization (ISO). Publ. N° 6579, Geneva, 1993.

ANON. Salmonella in Livestock Production. Ministry of Agriculture Fisheries and Food. Addlestone, Surrey: Veterinary Laboratories Agency, 2000.

ANON. Trends in selected gastrointestinal infectious – 2004. Commum Dis Rep Wkly 15. UK: Healthy Protection Agency. Available at: <http://www.hpa.org.uk/cdr/archives/2005/cdr1405.pdf> (accessed 13 July 2005)

ANTUNES, P.; RÉU, C.; SOUSA, J.C.; PEIXE, L.; PESTANA, N. Incidence of *Salmonella* from poultry products and their susceptibility to antimicrobial agents. **International Journal of Food Microbiology**. v.82, p.97-103, 2003.

ARAGON-ALEGRO, L.C.; SOUZA, K.L.O.; COSTA SOBRINHO, P.C.; LANDGRAF, M.; DESTRO, M.T. Avaliação da qualidade microbiológica de ovo integral pasteurizado produzido com e sem a etapa de lavagem no processamento. **Ciênc. Tecnol. Aliment**. v.25, p.618-622, 2005.

ARCHER, D.L.; KVENBERG, J.E. Incidence and cost of foodborne diarrhea disease in the United States. **Journal of Food Protection**. v.48, p.887-894, 1985.

BABA, E.; NAGAISHI, S.; FUKATA, T.; ARAKAWA, A. The role of intestinal microflora on the prevention of *Salmonella* colonization in gnotobiotic chickens. **Poultry Science**. v.70, p.1902-1907, 1991.

BABU, U., SCOTT; M.; MYERS, M.J.; OKAMURA, M.; GAINES, D.; RAYBOURNE, R.; YANCY, H.F.; LILEHOJ, H.; HECKERT, R..Effects of live attenuated and killed *Salmonella* Vaccine on T-lumphocyte mediated immunity in laying hens. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. 91, 39-44, 2003.

BABU, U., DALLOUL, R.A.; OKAMURA, M.; LILEHOJ, H.S.; XIE, H.; RAYBOURNE, R.; GAINES, I.; HECKERT, R. *Salmonella enteritidis* clearance and immune responses in chickens following salmonella vaccination and challenge. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. 101, 251-257, 2004.

BAILEY, J.S.; COX, N.A. **A comparison of an enzyme immunoassay, DNA hybridization, antibody immobilization and conventional methods for recovery of naturally occuring *Salmonellae* from processed broiler carcasses.** In:

Colonization control of human bacterial enteropathogens in poultry. L.C. Blankenship: ed. Academic Press, San Diego, Calif., 1991. p.347-351.

BAILEY, J.S.; COX, N.A.; BLANKENSHIP, L.C. and STERN, N.J. Hatchery contamination reduces the effectiveness of competitive exclusion treatments to control salmonella colonization of broiler chicks. **Poultry Science**. v.71 (Suppl.1): 6 (Abstr.), 1992.

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

BANJO, A.D.; LAWAL, O.A.; ADEDUJI, O.O. Bacteria and Fungi Isolated from Housefly (*Musca domestica* L.) Larvae. **African Journal of Biotechnology**. v.4, p.780-784, 2005

BARBOSA, M.D.; BERCHIERI JÚNIOR, A.; NASCIMENTO, M.S.; ZANCAN, F. Comparação de metodologia para o isolamento de *Salmonella* em carcaças de frango. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS – trabalhos de pesquisa, 1999, São Paulo. **Anais** Campinas: FACTA, 1999. p. 75.

BARCELLOS, D.E.S.N.; BOROWSKI, S.M.; KULLER, F.L.; PRATES, A.B.H. Alternativas ao uso de antimicrobianos. **A Hora Veterinária**. v.140, p.53-54, 2004.

BARON, F.; BRIANDET, R.; LESNE, J.; HUMBERT, F.; ABLAIN, W.; GAUTIER, M. Influence of a nonfavorable environment, egg white, on resistance to heat and disinfectant, adhesion, and virulence of *Salmonella Enteritidis*. **Journal of Food Protection**. v.67, p.2269-2273, 2004.

BARROW, P.A.; HASSAN, J.O.; BERCHIERI JÚNIOR, A. Reduction in faecal excretion of *Salmonella typhimurium* strain F98 in chickens vaccinated with live and killed *S. typhimurium* organisms. **Epidemiology and Infection**. v.104, p.413-426, 1990.

BARROW, P.A. *Salmonella* control – past, present and future. **Avian Pathology**. v.22, p.651-669, 1993.

BARROW, P.A. *Salmonella* em avicultura – Problemas e novas idéias sobre possibilidades de controle. **Brazilian Journal of Poultry Science**. v.1, p.09-16, 1999.

BARROW, P.A.; LOVELL, M.A. Experimental infection of egg-laying hens with *Salmonella enteritidis* phage type 4. **Avian Pathology**. v.20, p.335–348, 1991.

BARTZ, C.R.; CONKLIN, R.H.; TUNSTALL, C.B.; STEELE, J.H. Prevention of murine rotavirus infection with chicken egg yolk immunoglobulins. **Journal Infectious Diseases**. v.142, p.439-431, 1980.

BAÚ, A.C.; CARVALHAL, J.B.; ALEIXO, J.A.G. Prevalência de *Salmonella* em produtos de frango e ovos de galinha comercializados em Pelotas, RS. **Ciência Rural**. v.31, n.2, p.303-307, 2001.

BÄUMLER, A.J.; HARGIS, G.M.; TSOLIS, R.M. Tracing the origins of *Salmonella* outbreaks. **Science**. v.287, p.50-52, 2000.

BEEL, D.D. Historical and current molting practices in the US table egg industry. **Poultry Science**. v.82, p.965-970, 2003.

BENNET, A.R.; GREENWOOD, D.; TENNANT, C.; BANKS, J.G.; BETTS, R.P. 1998. Rapid and definitive detection of *Salmonella* in foods by PCR. **Letters in Applied Microbiology**. v.26, p.437-441, 1998.

BERCHIERI JÚNIOR, A.; IRINO, K.; KEME, S.N.; CALZADA, C.R.; FERREIRA, S.A.; PESSOA, G.V.A. Contaminação por *Salmonella* em farinhas de carne de origem

animal utilizadas no preparo de rações. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.4, p.83-85, 1984.

BERCHIERI JÚNIOR, A. Paratifo: Como podemos controlá-lo ou erradicá-lo a nível de produção. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1991, Santos. **Anais** Campinas: FACTA, 1991. p.49-62.

BERCHIERI JÚNIOR, A; BARROW, P.A. Patologia e métodos de diagnóstico de SE em aves. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1995, Curitiba. **Anais** Campinas: FACTA, 1995. p.01-05.

BERCHIERI JÚNIOR, A. Salmonelose aviária no Brasil e no mundo. In: V SIMPÓSIO ACETAV – Atualidades Avícolas, 1999, Fortaleza. **Anais** Fortaleza: ACETAV, 1999. p.65-67.

BERCHIERI JÚNIOR, A. Salmoneloses Aviárias. In: BERCHIERI JÚNIOR, A; MACARI, M. **Doenças das Aves**. Campinas: FACTA, 2000. p.185-196.

BERCHIERI JÚNIOR, A.; WIGLEY, P.; PAGE, K.; MURPHY, C.K.; BARROW, P.A. Further studies on vertical transmission and persistence of *Salmonella enterica* sorovar Enteritidis phage type 4 in chickens. **Avian Pathology**. v.30, p.297-310, 2001.

BERGHOLD, C.; KORNSCHÖBER, C.; WEBER, S. A regional outbreak of *S. Enteritidis* phage type 5, traced back to the flocks of an egg producer, Austria. **Euro Surveill**. V.8, p.195-198, 2003,

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

BEZERRA, R.; VIEIRA, R.G.; MELO JÚNIOR, E.J. Galinha caipira (nativa) como reservatório de *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma sinoviae* e *Salmonella* sp. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS – trabalhos de pesquisa, 1995, Curitiba. **Anais** Campinas: FACTA, 1995. p.149-150.

BOER, E.; ZEE, H.V. *Salmonella* in foods of animal origin in the Netherlands. In: *Salmonella and Salmonellosis Symposium*. Ploufragan, França.265-271, 1992.

BOLDER, N.M.; JACOBS, W.F.; VAN LITH, B.; MULDER, R.W.A.W. Production of *Salmonella enteritidis* contaminated by artificial inoculation of laying hens. **Poultry Science**. v.70, p.147, 1991.

BRASIL, 1995. Ministério da Agricultura – Portaria SDA. N. 126, de 06 de novembro de 1995. Diário Oficial da União, Brasília, DF. MAA. (Normas para diagnóstico das Salmoneloses aviárias).

BUCHALA, F.G.; ISHIZUKA, M.M.; MATHIAS, L.A.; BERCHIERI JÚNIOR, A.; CASTRO, A.G.M.; CARDOSO, A.L.S.P.; TESSARI, E.N.C.; KANASHIRO, A.M.I. Ocorrência de reação sorológica contra *Salmonella* Pullorum em aves “fundo de quintal” do estado de São Paulo, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**. v.73, p.1-5, 2006.

BYRD, J.A.; HARGIS, B.M.; CALDWELL, D.J.; BAILEY, R.H.; HERRON, K.L.; McREYNOLDS, J.L.; BREWER, R.L.; ANDERSON, R.C.; BISCHOFF, K.M.; CALLAWAY, T.R.; KUBENA, L.F. Effect of lactic acid administration in the drinking water during preslaughter feed withdrawal on *Salmonella* and *Campylobacter* contamination of broilers. **Poultry Science**. v.80, p.278-283, 2001.

CAFFER, M.I.; EIGUER, T. *Salmonella enteritidis* in Argentina. **International Journal of Food Microbiology**. v.21, p.15-19, 1994.

CAFFER, M.I.; TERRAGNO, R. Manual de procedimientos para la caracterización de *Salmonella*. Ministerio de Salud. Subsecretaría de Investigación y Tecnología- ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”- Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas

(departamento Bacteriología – Serviço Enterobacterias, Buenos Aires, Argentina, 2001.

CAMPOS, L.C. Salmonella. In: TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F.; GOMPertz, O.F.; CANDEIAS, J.A.N. **Microbiologia**. São Paulo: Editora Atheneu, 3 ed., 2002. p.229-234.

CARDOSO, A.L.S.P.; TESSARI, E.N.C. Comparação de caldos de enriquecimento incubados em duas diferentes temperaturas e de meios de cultura na pesquisa de *Salmonella Gallinarum*. **Arquivos do Instituto Biológico**. São Paulo, v.71, n.1, p.9-13, 2004.

CARDOSO, W.M.; OLIVEIRA, W.F.; ROMAO, J.M.; SAMPAIO, F.A.C.; MORAES, T.G.V.; TEIXEIRA, R.S.C.; CÂMARA, S.R.; SALLES, R.P.R.; SIQUEIRA, A.A.; NOGUEIRA, G.C. Enterobacteria isolation in broiler carcasses from commercial establishments in Fortaleza, Ceará State, Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico**. v.73, n.4; p.383-397, 2006.

CARVALHO, A.C.B.F.; FLORIOTO, J.F.; SCHOCKEN-ITURRINO, R.P. *Campylobacter* e *Salmonella* nas fezes e em diferentes tipos de cama de frango. **ARS Veterinária**. v.17, n.3, p. 201-206, 2001.

CARVALHO, A.C.F.B.; CORTEZ, A.L.L. Contaminação de produtos avícolas industrializados e seus derivados por *Campylobacter jejuni* e *Salmonella* sp. **ARS Veterinária**. Jaboticabal, v.19, n.1, p.57-62, 2003.

CASON, J.A.; BAILEY, J.S.; COX, N.A. Transmission of *Salmonella typhimurium* during hatching of broiler chicks. **Avian Diseases**. v.38, p.583-588, 1994.

CDC (2004). *Salmonella* Surveillance: Annual Summary, 2003. Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention, US Department of Health and Human Services.

CERUTTI, M. O Controle de qualidade à nível de incubatório. In: XII CONGRESSO BRASILEIRO DE AVICULTURA, 1991, Brasília. **Anais** Brasília: UBA, 1991. p.37-49.

CERVANTES, H. Control de Salmonella en reproductoras de engorde y su progenie. In: VIII SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE PATOLOGIA AVIAR, 1994, Athens. **Anais** Athens: AMEVEA, 1994. p.393-415.

CHACANA, P.A.; TERZOLO, H.R. Revisión sobre Pullorosis y Tifosis aviar: nuevos enfoques para viejos conceptos. **Revista de Medicina Veterinária**. v.84, p.14-20, 2003.

CHACANA, P.A.; TERZOLO, H.R. Protection conferred by a live *Salmonella* Enteritidis vaccine against fowl typhoid in laying hens. **Avian Diseases**. v.50, p.280-283, 2006.

CHART, H.; ROWE, B.; BASKERVILLE, A.; HUMPHREY, T.J. Serological response of chickens to *Salmonella enteritidis* infection. **Epidemiology and Infection**. v.104, p.63-71, 1990.

CHEN, L.M.; KANIGA, K.; GALÁN, J.E. *Salmonella* spp. Are cytotoxic for cultured macrophages. **Mol. Microbiol.** v.21, p.1101-1115, 1996.

CHERNAKI-LEFFER, A.M.; BIESDORF, S.M.; ALMEIDA, L.M.; LEFFER, E.V.B.; VIGNE, F. Isolamento de enterobactérias em *Alphitobius diaperinus* e na cama de aviários no oeste do estado do Paraná, Brasil. **Brazilian Journal of Poultry Science**. v.4, n°3, p.243-247 Campinas, set/dez, 2002.

CLARK, D.S.; THATCHER, F.S. Analisis microbiológico de los alimentos. In: **Alimentos – Microbiologia Manuais de Laboratório**. Zaragoza: ACRIBIA, 1973. p.271.

CLIFTON-HADLEY, F.A.; BRESLIN, M.; VENABLES, L.M.; SPRIGINGS, K.A.; COOLES, S.W.; HOUGHTON, S.; WOODWARD, M.J. A laboratory study of an inactivated bivalent iron restricted *Salmonella enterica* serovars Enteritidis and Typhimurium challenge in chickens. **Veterinary Microbiology**. v.89, p.167-179, 2002.

COGAN, E.F.; HUMPHREY, T.J. The rise and fall of *Salmonella* Enteritidis in the U.K. **Journal of Applied Microbiology**. v.94, p.114-119, 2003.

COHEN, N.D.; McGRUDER, E.D.; NEIBERGS, H.L.; BEHLE, R.W.; WALLIS, D.E.; HARGIS, B.M. Detection of *Salmonella enteritidis* in feces from poultry using booster Polymerase Chain Reaction and oligonucleotide primers specific for all members of the genus *Salmonella*. **Poultry Science**. v.73, p.354-357, 1994.

COOPER, G.L.; VENABLES, L.M.; NICHOLAS, R.A.J.; CULLEN, G.A.; HORMAECHE, C.E. Vaccination of chickens with chicken-derived *Salmonella enteritidis* phage type 4 *aroA* live oral salmonella vaccines. **Vaccine**. v.10; p.247-254, 1992.

COOPER, G.L. Salmonellosis – infections in man and the chicken: pathogenesis and the development of live vaccines – a review. **Veterinary Bulletin**. v.64, n.2, p.123-143, 1994.

COTTER, P.A.; DIRITA, V.J. Bacterial virulence gene regulation: na evolutionary perspective. **Annu. Rev. Microbiol.** v.54, p.519-565. 2000.

CORREA, W.M.; CORREA, C.M. **Paratífos em geral**. In: *Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos*. 2.ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 1992. p.163-174.

COSTA, F.N. **Sorotipos de *Salmonella* em carcaças e cortes de frango obtidos na indústria e no comércio e comportamento das cepas isoladas frente à ação de antimicrobianos**. Jaboticabal, São Paulo, 1996. 82p. Dissertação (Mestrado) –

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Universidade Estadual Paulista (UNESP).

COX, N.A.; BAILEY, J.S.; MAULDIN, J M.; BLANKENSHIP, L.C. Presence and impact of *Salmonellae* contamination in the commercial integred broiler hatchery. **Poultry Science**. v.69, p.1606-1609, 1990.

COX, N.A.; BAILEY, J.S.; MAULDIN, J M.; BLANKESHIP, L.C.; WISON, J.L. Extent of Salmonellae, Contamination in breeder hatcheries. **Poultry Science**. v.70, p.416-418, 1991.

COX, N.A.; BAILEY, J.S.; BERRANG, M.E. Alternative routes for *Salmonella* intestinal tract colonization of chicks. **Journal Applied Poultry Research**. v.5, p.282-288, 1996.

COX, N.A.; BAILEY, J.S.; RICHARDSON, L.J.; BURH, R.J.; COABY, D.E.; WILSON,J.L.; HIETT, K.L.; SIRAGUSA, G.R.; BOURASSA, D.V. Presence of Naturally Occurring *Campylobacter* and *Salmonella* in the Mature and Immature Follicles of Late-Life Broiler Breeder Hens. **Avian Diseases**. v.49, p.285-287, 2005.

COX, N.A.; BERRANGE, M.E.; CSAON, J.A. *Salmonella* penetration of eggs shells and proliferation in broiler hatching eggs. **Poultry Science**. v.79, n.11, p.1571-1574, 2000.

CREAVEN, S.E.; WILLIAMS, D.D. Inhibition of *Salmonella typhimurium* attachment to cecal muco by intestinal isolates of Enterobacteriaceae and Lactobacili. **Avian Diseases**. v.41, p.548-558, 1996.

CRESPO, P.S.; HERNANDEZ, G.; ECHEITA, A.; TORRES, A.; ORDONEZ, P.; ALADUENA, A. Surveillance of foodborne disease outbreaks associated with consumption of eggs and eggs products: Spain, 2002-2003. **Euro Surveill**. v.10, 2005.

CURTISS, R.; III, S.M.KELLY; GULIG, P.A.; NAKAYAMA, K. Stable recombinant avirulent *Salmonella* vaccine strains [Review]. *Adv. Exp. Med. Biol.* 251: 33-47, 1989.

CURTIS, P.A.; ANDERSON, K.E.; JONES, F.T. Cryogenic gas for rapid cooling of commercially processed shell eggs before packaging. **Journal of Food Protection.** v.58, p.389-395, 1995.

D'AOUST, J.Y.; SEWELL, A.; GRECO, P. Detection of *Salmonella* in dry foods using refrigerated pre-enrichment and enrichment broth cultures: Interlaboratory study. **Journal AOAC International.** v.76, n.4, p.814-821, 1993.

D'AOUST, J.Y. 1997. *Salmonella* species. In: DOYLE, M.P.; BEUCHAT, L.R.; MONTVILLE, T.J. (eds.), **Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers.** Washington, ASM PRESS, p.129-158.

DAVIES, R.H.; WRAY, C. Mice as carriers of *Salmonella enteritidis* on persistently infected poultry units. **Veterinary Record.** v.137, p.337-341, 1995.

DAVIES, R.H.; WRAY, C. Persistence of *Salmonella enteritidis* in poultry units and poultry food. **Brazilian Journal of Poultry Science.** v.37, p.589-596, 1996.

DE BUCK, J.; VAN IMMERSEEL, F.; HAESBROUCK, F.; DUCATELLE, R. Colonization of the chicken reproductive tract and egg contamination of chicken and chicken products in the Netherlands with *Salmonella* and *Campylobacter*. **Journal Applied Microbiology.** v.97, p.233-245, 2004.

DIPEOLU, O.O. Field and Laboratory investigations into the role of *Musca* species in the transmission of intestinal parasitic cysts and egg in Nigeria. **Journal Epidemiology Microbiology and Immunology.** v.21, p.209-214, 1977.

DUGUID, J.P.; NORTH, A.E. Eggs and salmonella food-poisoning: an evaluation. **Journal Medical Microbiology**. v.34, p.65-72, 1991.

EBEL, E.; SCHLOSSER, W. Estimating the annual fraction of eggs contaminated with *Salmonella enteritidis* in the United States. **International Journal of Food Microbiology**. v.61, p.51-62, 2000.

ECKNER, K.F.; DUSTMAN, W.A.; CURIALE, M.S. Use of an elevated temperature and novobiocin in modified enzyme-linked immunoabsorbent assay for the improved recovery of *Salmonella* from foods. **Journal of Food Protection**. v.55, n.10, p.758-762, 1992.

EDWARDS, P.R.; EWING, W.H. Identification of Enterobacteriaceae. 3 ed. Mineapolis (MA): Burgess Publishing Co; 1972.

EDWARDS, R.A.; PUENTE, J.L. Fimbrial expression in enteric bacteria: a critical step in intestinal pathogenesis. **Trends. Microbiol.** v.6, p.282-287, 1998.

ELBOUX, A. N. D.; PEQUINI, M. R. S.; FERREIRA, C. S. A.; FERREIRA, A. J. P. Resistência de *Salmonella* spp. à antimicrobianos. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2002, Campinas. **Anais** Campinas: FACTA, 2002, p.114 .

ENGBERG, R.M.; HEDEMANN, M.S.; JENSEN, B.B. The influence of grinding and pelleting of feed on the microbial composition and activity in the digestive tract of broiler chickens. **Poultry Science**. v.44, p.569-579, 2002.

ERDOGRUL, O.T.; OZKAN, N.; ÇAKIROGLU, E. *Salmonella enteritidis* in Quail Eggs. **Turkish Journal Veterinary Animal Science**. v.26, p.321-323, 2002.

ERDOGRUL, O.T. *Listeria monocitogens*, *Yersinia enterocolitica* e *Salmonella enteritidis* in Quail Eggs. **Turkish Journal Veterinary Animal Science**. v.28, p.597-601, 2004.

ESTUPINAN, J.; CUÉLLER, M.N.; D'AGOSTINHO, M. Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) en Latinoamérica y el Caribe. In: CONGRESO LATINO-AMERICANO DE MICROBIOLOGIA E HIGIENE DE ALIMENTOS, 5, 1998, Águas de Lindóia, SP. **Anais...**São Paulo: Sociedade Brasileira de Microbiologia, 1998. v.1, 154p, p.69.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY,2006. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents, Antimicrobial Resistance and Foodborne Outbreaksin the European Union in 2005. v.94, 288p.

EYIGOR, A.; CARLI, K.T. Rapid detection of *Salmonella* from poultry by real-time Polymerase Chain Reaction with fluorescent hybridization probes. **Avian Diseases**. v.47, p.380-386, 2003.

FERREIRA, A.J.P.; ITO, N.M.K.; BENEZ, S.M. Infecção natural e experimental por *Salmonella enteritidis* em pintos. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1990, Campinas. **Anais** Campinas: FACTA, 1990. p.171.

FINLAY, B.B.; COSSART, P. Exploitation of mammalian host cell functions by bacterial pathogens. **Science**. v.276, p.718-725, 1997.

FITZGERALD, M.; BONNER, C.; FOLEY, B.; WALL, P.G. Analysis of outbreaks of infectious intestinal disease in Ireland: 1988 and 1989. **Irish Medical Journal**. v.94, p.140-144, 2001.

FLOWERS, R.S.; D' AOUST, J.Y.; ANDREWS, W.H.; BAILEY, J.S. *Salmonella*. In: American Public Health Association. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 3 ed. Washington: APHA, 1992. p.371-422.

FRANCO, B.D.M.G; LANDGRAF, M. Microrganismos patogênicos de importância em alimentos. In: FRANCO, B.D.M.G; LANDGRAF, M. Microbiologia dos alimentos. São Paulo: Editora Atheneu, 1996. p.33-80.

FULLER, R. Probiotics in man and animals. **Journal Applied Bacteriology**. v.66, p.55-61, 1989.

GAMA, N.M.S.Q. **Salmonella spp. em aves de postura comercial**. Jaboticabal, São Paulo, 2001. 58p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Universidade Estadual Paulista (UNESP).

GAMA, N.M.S.Q; BERCHIERI JÚNIOR, A; FERNANDES, S.A. Occurrence of Salmonella sp in laying hens. **Brazilian Journal of Poultry Science**. v.5, n.12, p.15-21, 2003.

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.; BEARD, C.W. Detection of Salmonella serogroup D-specific antibodies in the yolks of eggs laid by hens infected with Salmonella enteritidis. **Poultry Science**. v.70, p.1273-1276, 1991.

GAST, R.K.; BEARD, C.W. Detection and enumeration of Salmonella enteritidis in fresh and stored eggs laid by experimentally infected hens. **Journal of Food Protection**. v.55, p.152-156, 1992.

GAST, R.K. Salmonella infectious. In: CALNEK, B.W.; BARNES, H.J.; BEARD, C.W.; McDOUGALD, L.R.; SAIF, Y.M. (Eds.). **Diseases of Poultry**. 10 ed. Ames: Iowa State University Press, 1997. p.81-129.

GAST, R.K.; PORTER JR, R.E.; HOLT, P.S. Assessing the sensitivity of egg yolk antibody testing for detecting *Salmonella enteritidis* infections in laying hens. **Poultry Science**. v.76, p.798-801, 1997a.

GAST, R.K.; HOLT, P.S. Persistence of *Salmonella enteritidis* from one day of age until maturity in experimentally infected layer chickens. **Poultry Science**. v.77, p.1759-1762, 1998.

GAST, R.K.; HOLT, P.S. Experimental horizontal transmission of *Salmonella enteritidis* strains (phage types 4, 8 and 13 a) in chicks. **Avian Diseases**. v.13, p.774-778, 1999.

GAST, R.K.; HOLT, P.S. Deposition of phage type 4 and 13a *Salmonella enteritidis* strains in the yolk and albumen of eggs laid by experimentally infected hens. **Avian Diseases**. v.44, p.706-710, 2000.

GAST, R.K.; HOLT, P.S. Assessing the frequency and consequences of *Salmonella enteritidis* deposition on the egg yolk membrane. **Poultry Science**. v.80, p.997-1002, 2001.

GAST, R.K.; GUARD-PETTER, J.; HOLT, P.S. Characteristics of *Salmonella enteritidis* contamination in eggs after oral, aerosol, and intravenous inoculation of laying hens. **Avian Diseases**. v.46, p.629-635, 2002.

GAST, R.K.; GUARD-PETTER, J.; HOLT, P.S. Effect of prior serial in vivo passage on the frequency of *Salmonella enteritidis* contamination in eggs from experimentally infected layer hens. **Avian Diseases**. v.47, p.633-639, 2003.

GAST, R.K.; GUARD-BOULDIN, J.; HOLT, P.S. Colonization of reproductive organs and internal contamination of eggs after experimental infection of laying hens with *Salmonella Heidelberg* and *Salmonella enteritidis*. **Avian Diseases**. v.48, p.863-869, 2004

GAST, R.K.; MITCHELL, B.W.; HOLT, P.S. Detection of airborne *Salmonella* enteritidis in the environment of experimentally infected laying hens by an electrostatic sampling device. **Avian Diseases**. v.48, p.148-154, 2004a.

GAST, R.K.; GUARD-BOULDIN, J.; HOLT, P.S. The relationship between the duration of fecal shedding and the production of contaminated eggs by laying hens infected with strains of *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Heidelberg. **Avian Diseases**. v.49, p.382-386, 2005.

GELLI, D. Surtos humanos por salmonella em alimentos. In: ENCONTRO DOS AVICULTORES DO ESTADO DE SÃO PAULO, 21, 1995, Bastos. **Anais...** Bastos: Sindicato Rural de Bastos, 1995. p.1-8.

GIESSEN, A.W.; DUFRENNE, J.B.; RITMEESTER, W.S.; BERKERS, P.A.T.A.; LEEUWEN, W.J.; NOTERMANS, S.H.W. The identification of *Salmonella enteritidis*-infected poultry flocks associated with an outbreak of human salmonellosis. **Epidemiology and Infection**. v.109, p.405-411, 1992.

GILLESPIE, I.A.; O'BRIEN, S.J.; ADAK, G.K.; WARD, I.R.; SMITH, H.R. Foodborne general outbreaks of *Salmonella* Enteritidis phage type 4 infection, England and Wales, 1992-2002; where are the risks? **Epidemiology and Infection**. v.133, p.795-801, 2005.

GONZALES, E.; CAFÉ, M.B. Produção de pintos com qualidade total. In: MACARI, M.; GOZALES, E. Manejo da Incubação, Campinas: FACTA, 2003, p.515-526.

GOODWIN, M.A. Cryptosporidiosis in birds: a review. **Avian Pathology**. v.18, p.365-384, 1989.

GOOSNEY, D.L.; KNOECHEL, D.G.; FINLAY, B.B. Enteropathogenic *E. coli*, *Salmonella* and *Shigella*: Master of host cell cytoskeletal exploitation. **Emerging Infectious Diseases**. v.5, p.216-223, 1999.

GREIN, T.; O'FLANAGAN, D.; McCARTLY, T.; PRENDERGAST, T. Reducción del riesgo de salmonelosis procedente de huevos. **Eurosurveillance Monthly**. London, v.2, n.11, p.86-88, 1997.

GUARD-PETTER, J.; HENZLER, D.J.; RAHMAN, M.M.; CARLSON, R.W. On farm monitoring of mouse-invasive *Salmonella enterica* serovar Enteritidis on a model for its association with the production of contaminated eggs. **Applied and Environmental Microbiology**. v.63, p.1588-1593, 1997.

GUARD-PETTER, J. The chicken, the egg and *Salmonella* Enteritidis. **Applied and Environmental Microbiology**. v.3, p.421-430, 2001.

GUARD-BOULDIN, J.; GAST, R.K.; HUMPHREY, T.J.; HENZLER, D.J.; MORALES, C.; COLES, K. Subpopulation characteristics of egg-contaminating *Salmonella enterica* serovar Enteritidis as defined by the lipopolysaccharide O chain. **Applied and Environmental Microbiology**. v.70, p.2756-2763, 2004.

GUSTIN, P.C. Biossegurança no incubatório. In: MACARI, M.; GONZALES, E. **Manejo da Incubação**, Campinas: FACTA, 2003, p.297-349.

HAJDENWURCEL, J.R. **Atlas de microbiologia de alimentos**. São Paulo: Higiene Alimentar, 1997. 96p.

HAMMACK, T.S.; SHERROD, P.S.; BRUCE, V.R. Research note: Growth of *Salmonella enteritidis* in grade A eggs during prolonged storage. **Poultry Science**. v.72, p.373-377, 1993.

HANENBERG, E. Soroaglutinação em placa como ferramenta no diagnóstico em avicultura. **Aves e Ovos**. São Paulo, v.6, p.25-28, 1994.

HASAN, J.A.K.; KNIGHT, I.T.; TATE, C.R.; MALLINSON, E.T.; MILLER, R.G.; COLWELL, R.R.; JOSEPH, S.W. Evaluation of radiolabeled and colorimetric DNA probes in comparison with an antigen screening assay for the detection of *Salmonella* from poultry farms. **Avian Diseases**. v.35, p.397-402, 1991.

HASSAN, J.O.; BARROW, P.A.; MOCKETT, A.P.A.; McLEOD, S. Antibody response to experimental *Salmonella typhimurium* infection in chickens measured by ELISA. **The Veterinary Record**. v.126, p.519-522, 1990.

HASSAN, J. O.; CURTIS III, R. Efficacy of a Live Avirulent *Salmonella typhimurium* Vaccine in Preventing Colonization and Invasión of Laying Hens by *Salmonella typhimurium* and *Salmonella enteritidis*. **Avian Diseases**. v.41, p.783-791, 1997.

HENZLER, D.J.; OPTIZ, H.M. The role of mice in the epizootiology of *Salmonella Enteritidis* infection on chicken layer farms. **Avian Diseases**. v.36, p.625-631, 1992.

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

HOFACRE, C. A program to control *Salmonella*. In: IX SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE PATOLOGIA AVIAR, 1988, Athens. **Anais Athens: AMEVEA**, 1988. p.546-547.

HOFER, E. Epidemiologia das salmoneloses: incidência de sorotipos de *Salmonella* em aves e rações (matérias-primas) no período de 1966-1984. In: Anais do IV Simpósio do Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves – I Simpósio Catarinense de Sanidade Agrícola, Embrapa- CNPSA Doc.9. Chapecó, Santa Catarina, 1985.

HOFER, E.; REIS, E.M.F. *Salmonella* serovars in food poisoning episodes recorded in Brazil from 1982 to 1991. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. v.36, p.7-9, 1994.

HOFER, E.; SILVA FILHO, S.J.; REIS, E.M.F. Prevalência de sorovares de *Salmonella* isolados de aves no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.17 (2), p.55-62, abr/jun. 1997.

HOFER, E.; SILVA FILHO, S.J.; REIS, E.M.F. Salmonella serovars isolated from feedstuff and poultry feeds in Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.18, n.1, p.21-27, 1998.

HOGUE, A.T.; EBEL, E.D.; THOMAS, L.A.; SCHLOSSER, W.; BUFANO, N; FERRIS, K. Surveys of Salmonella enteritidis in unpasteurized liquid egg and spent hens at slaughter. **Journal of Food Protection**. v.60, p.1194-1200, 1997.

HOUGE, A.; WHITE, P.; GUARD-PETTER, J.; SCHLOSSER, W.; GAST, R.; EBEL, E.; FARRAR, J.; GOMEZ, T.; MADDEN, J.; MADISON, M; McNAMARA, A.M.; MORALES, R.; PARHAM, D.; SPARLING, P.; SUTHERLIN, W.; SWERDLOW, D. Epidemiology and control of egg-associated *Salmonella* Enteritidis in the United States of America. **Review Science Technology Office International Epizootic**. v.16, p.542-553, 1998.

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

HOLT, P.S. Effects of induced molting on immune responses of hens. **Poultry Science**. v.33, p.165-175, 1992.

HOLT, P.S. Effect of induced molting on B cell and CT4 and CT8 T cell numbers in spleens and peripheral blood of white leghorn hens. **Poultry Science**. v.71, p.2027-2034, 1992a.

HOLT, P.S. Effect of molting on the susceptibility of white leghorn hens to a *Salmonella* enteritidis infection. **Avian Diseases**. v.37, p.412-417, 1993.

HOLT, P.S. Horizontal transmission of *Salmonella enteritidis* in molted and unmolted laying chickens. **Avian Diseases**. v.39, p.239-249, 1995.

HOLT, P.S.; PORTER JÚNIOR, R.E. Effect of induced molting on the course of infection and transmission of *Salmonella enteritidis* in white leghorn hens of different ages. **Poultry Science**. v.71, p.1842-1848, 1992.

HOLT, P.S.; MACRI, N.P.; PORTER JUNIOR, R.E. Microbiological analysis of the early *Salmonella enteritidis* infection in molted and unmolted hens. **Avian Diseases**. v.39, p.55-63, 1995.

HUANG, D.S.; LI, D.F.; XING, J.J.; MA, Y.X.; LI, Z.J.; LV, S.Q. Effects of feed particle size and feed form on survival of *Salmonella typhimurium* in the alimentary tract and cecal *S. typhimurium* reduction in growing broilers. **Poultry Science**. v.85, p.831-836, 2006.

HUCTHISON, M.L.; GITTINS, J.; WALKER, A.; SPARKS, N.; HUMPHREY, T.J.; BURTON, C.; MOORE, A. An assessment of the microbiological risks involved with egg washing under commercial conditions. **Journal of Food Protection**. v.67, p.4-11, 2004.

HULTGEN, S.J.; JONES, C.H.; NORMARK, S. Bacterial adhesion and their assembly. In: NEIDHARDT, F.C. *et al.* eds. *Escherichia coli* and *Salmonella*: Cellular and Molecular Biology. ASM Press 1996, p.2730-2756.

HUMPHREY, T.J.; MEAD, G.C.; ROWE, B. Poultry meat as a source of human salmonellosis in England and Wales. **Epidemiology and Infection**. v.100, p.175-184, 1988.

HUMPHREY, T.J.; GREENWOOD, M.; GILBERT, R.J.; ROWE, B.; CHAPMAN, P.A. The survival of salmonellas on shell eggs cooked under simulated domestic conditions. **Epidemiology and Infection**. v.103, p.35-45, 1989.

HUMPHREY, T.J.; WHITEHEAD, A.; GAWLER, A.H.L.; HENLEY, A.; ROWE, B. Numbers of *Salmonella enteritidis* in the contents of naturally contaminated hen's eggs. **Epidemiology and Infection**. v.106, p.489-496, 1991.

HUMPHREY, T.J. Contamination of egg shell and contents with *Salmonella enteritidis* a review. **International Journal of Food Microbiology**. v.21, p.31-40, 1994.

IBA, A.M.; MONTASSIER, M.F.S.; GAMA, N.M.S.O.; KANETO, C.N.; BERCHIERI JÚNIOR, A. Utilização do ELISA (teste imunoenzimático) na detecção de portadores de *Salmonella gallinarum* e *S. pullorum*. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1993, Santos. **Anais** Campinas: FACTA, 1993. p.57.

IRINO, K.; FERNANDES, S.A.; TAVECHIO, A.T.; NEVES, B.C.; DIAS, A.M.G. Progression of *Salmonella enteritidis* phage type 4 strains in São Paulo State, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.38, p.193-196, 1996.

ISO 6579, 1993. Microbiology. General guidance on methods for the detection of *Salmonella*. International Organization of Standardization, Geneva, Switzerland.

JAMES, W. *Salmonella* serotypes from carcasses e raw ground products. In Pro. off the US Animal Health Committee. Pat Campbell and Associates and Carter Printing Co., Richmond, VA. 2000.

JENSEN, V.B.; HARTY, J.T.; JONES, B. Interactions of the invasive pathogens *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes* and *Shigella flexneri* with M cells and murine Peyer's patches. **Infect. Immunology**. v.66, p.3758-3766, 1998.

JEPSON, M.A. & CLARK, M.A. Studying M cell and their role in infection. **Trend Microbiol.** v.6, p.359-365, 1998.

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

KASSAIFY, Z.G.; MINE, Y. Effect of food protein supplements on *Salmonella enteritidis* infection and prevention in laying hens. **Poultry Science**. v.83, p.753-760, 2004.

KATTOM, T.J.; NOLAN, L.K.; BROWN, J. Invasion of caco-2 cellsmurium (Copenhagen) isolates from healthy and sick chickens. **Avian Diseases**. v.39, p.867-872, 1995.

KELLER, L.H.; BENSON, C.E.; KROTEC, K.; ECKROADE, R.J. *Salmonella enteritidis* colonization of the reproductive tract and forming and freshly laid eggs of chickens. **Infection and Immunity**. v.63, p.2443-2449, 1995.

KELLEY, T. R.; PANCORBO, O. C.; MERKA, W. C.; BARNHARTS, H. M. Antibiotic Resistance of Bacterial Litter Isolates. **Poultry Science**. v.77, p.243- 247, 1998.

KINDE, H.; ATWILL, E.R. Salmonella in sewage effluent raises ecological and food safety concerns. **Calif. Agric**. v.54 (5), p.62-68, 2000.

KINDE, H.; SHIVAPRASAD, H.L.; DAFT, B.M.; READ, D.H.; ARDANS, A.; BREITMEYER, R.; RAJASHEKARA, G.; NAGAJARA, K.V. Pathologic and bacteriologic findings in 27-week-old commercial laying hens experimentally infected with *Salmonella enteritidis*, phage type 4. **Avian Diseases**. v.49, p.239-248, 2000.

KINGSTON, D.J. A comparison of culturing drag swabs and litter for identification of infectious with *Salmonella* sp. in commercial chicken flocks. **Avian Diseases**. v.25, p.513-516, 1981.

KRAMER, J.; VISSCHER, A.H.; WAGENAAR, J.A.; JEURISSEN, S.H.M. Entry and survival of *Salmonella enterica* sorotipo Enteritidis PT4 in chicken macrophage and lymphocyte cell lines. **Veterinary Microbiology**. v.91, p.147-155, 2003.

KUBENA, L.F.; BYRD, J.A.; MOORE, R.W.; RICKE, S.C.; NISBET, D.J. Effects of drinking water treatment on susceptibility of laying hens to *Salmonella enteritidis* during forced molt. **Poultry Science**. v.84, p.204-211, 2005.

KWON, Y.M.; WOODWARD, C.L.; CORRIER, D.E.; BYRD, J.A.; PILLAI, S.D.; RICKE, S.C. Recovery of a marker strain of *Salmonella typhimurium* in litter and aerosols from isolation rooms containing infected chickens. **Journal Environmental Sci. Health**. v.35, p.517-525, 2000.

KWON, Y.M.; WOODWARD, C.L.; PILLAI, S.D.; BYRD, J.A.; RICKE, S.C. Litter and aerosol sampling of chicken houses for rapid detection of *Salmonella typhimurium* contamination using gene amplification. **Journal Industrial Microbiology Biotechnology**. v.24, p.379-382, 2000a.

LAZARO, N.C.; TIBANA, A.; HOFER, E. *Salmonella* spp. in healthy swine and in abattoir environments in Brazil. **Journal of Food Protection**. v.60, n.9, p.1029-1033, 1997.

LAX, A.J.; BARROW, P.A.; JONES, P.W.; WALLIS, T.S. Current perspectives in Salmonellosis. **British Veterinary Journal**. v.151, n.4, p.351-377, 1995.

LEACH, S.A.; WILLIAMS, A.; DAVIES, A.C.; WILSON, J.; MARSH, P.D.; HUMPHREY, T.J. Aerosol route enhances the contamination of intact eggs and muscle of experimentally infected laying hens by *Salmonella typhimurium* DT104. **FEMS. Microbiology Letters**. v.171, p.203-207, 1999.

LIEBANA, E.; GARCIA-MIGURA, L.; CLOUTING, C.; CLIFTON-HADLEY, F.A.; BRESLIN, M.; DAVIES, R.H.; Molecular fingerprinting evidence of the contribution of

wildlife vectors in the maintenance of *Salmonella* Enteritidis infection in layer farms. **Journal of Applied Microbiology**. v.94, p.1024-1029, 2003.

LOGUERCIO, A.P.; ALEIXO, J.A.G.; VARGAS, AC.; COSTA, M.M. Elisa indireto na detecção de *Salmonella* spp. em lingüiça suína. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.32, n.6, p.1057-1062, 2002.

LOW, D.; BRATEN, B.; WOUDE, M. Fimbriae, In Neidhardt, FC *et al.*, editors. *Escherichia coli* and *Salmonella*: Cellular and Molecular Biology. ASM Press, p.146-157, 1996.

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

MACARI, M.; MAIORKA, A. Função gastrointestinal e seu impacto no rendimento avícola. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2000, Campinas. **Anais** Campinas: FACTA, 2000. p.161-174.

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

MACRI, N.P.; PORTER JUNIOR, R.E.; HOLT, P.S. The effects of induced molting on the severity of acute intestinal infection caused by *Salmonella enteritidis*. **Avian Diseases**. v.41, p.117-124; 1997.

MALLINSON, E.T.; TATE, C.R.; MILLER, R.G.; BENNET, B.; RUSSEK-COHEN. Monitoring poultry farms for *Salmonella* by drag-swab sampling and antigen-capture immunoassay. **Avian Diseases**. v.33, p.684-690, 1989.

MARCUS, R.; RABATSKY-EHR, T.; MOHLE-BOETANI, J.C.; FARLEY, M.; MEDUS, C.; SHIFERAW, B.; CARTER, M.; ZANSKY, et al. Dramatic decrease in the incidence of *Salmonella* serotype Enteritidis infections in 5 Food Net sites: 1996-1999. **Clinical Infectious Diseases**. v.38 (suppl 3), S135-S141, 2004.

MASON, J. *Salmonella enteritidis* control programs in the United States. **International Journal of Food Microbiology**. v.21, p.155-169, 1994.

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 HEALTHY ASSOCIATION, 94, London, Proceedings... p.450-462, 1990.

MCGRUDER, E.D.; KOGUT, M.H.; CORRIER, D.E.; DELOACH, J.R.; HARGIS, B.M. Comparison of Prophylactic and Therapeutic Efficacy of *Salmonella enteritidis*-immune Lymphokines against *Salmonella enteritidis* Organ Invasion in Neonatal Leghorn chicks. **Avian Diseases**. v.39, p.21-27, 1995.

MERCHANT, L.A.; PACKER, R.A. **Bacteriologia e Virologia Veterinária**. 3.ed., Zaragoza: Acribia, 1980, p.299-322.

MESSENS, W.; GRIJSPEERDT, K.; HERMAN, L. Eggshell penetration by *Salmonella*: a review. **World's Poultry Science Journal**. v.61, n.1, p.71-85, 2005.

METHNER, V.; AL-SHABIBI, S.; MEYER, H. Infection model for hatching chicks infected with *Salmonella enteritidis*. **Journal Veterinary Medicine**. v.42, p.471-480, 1995.

MICHAEL, G.B.; SIMONETI, R.; COSTA, M.; CARDOSO, M. Comparison of different selective enrichment steps to isolate *Salmonella* sp. from feces of finishing swine. **Brazilian Journal of Microbiology**. v.34, p.138-142, 2003.

MINE, Y.; KOVACS-NOLAN, J. Chicken egg yolk antibodies as therapeutics in enteric infectious disease: A review. **Journal Medicine Food**. v.5, p.159-169, 2002.

MITCHELL, B.W.; BUHR, R.J.; BERRANG, M.E.; BAILEY, J.S.; COX, N.A. Reducing airborne pathogens, dust and *Salmonella* transmission in experimental hatching cabinets using an electrostatic space system. **Poultry Science**. v.81, p.49-55, 2002.

MIYAMOTO, T.; BABA, E.; TANAKA, T.; SASAI, K.; FUKATA, T.; ARAKAWA, A. *Salmonella enteritidis* contamination of eggs from hens inoculated by vaginal, cloacal, and intravenous routes. **Avian Diseases**. v.41, p.296-303, 1997.

MONACK, D.M.; HERSH, D.; GHORI, N.; BOULEY, D.; ZYCHLINSKY, A.; FALKOW, S. *Salmonella* exploits caspase-1 to colonize Peyer's patches in a murine typhoid model. **J. Exp. Med.** v.192, p.249-258, 2000.

MORRIS, G.K. *Salmonella enteritidis* and eggs: assessment of risk. **Dairy Food and Environmental Sanitation**. v.10, n.5, p.279-281, 1990.

MUMMA, G.A.; GRIFFIN, P.M.; MELTZER, M.I.; BRADEN, C.R.; TAUXE, R.V. Egg quality assurance programs and egg-associated *Salmonella* Enteritidis infections, United States. **Emerging Infectious Diseases**. v.10, p.1782-1789, 2004.

NAKAMURA, M.; NAGAMINE, N.; SUZUKI, S.; NORIMATSU, M.; OISHI, K.; KIJIMA, M.; TAMURA, Y.; SATO, S. Long-term shedding of *Salmonella* Enteritidis in chickens which received a contact exposure within 24 hrs of hatching. **Journal Veterinary Medical Science**. v.59, p.649-653, 1993.

NAKAMURA, M.; TAKAGI, M.; TAKANASHI, T.; SUZUKI, S.; SATO, S.; TAKEHARA, K. The effect of the flow of air on horizontal transmission of *Salmonella enteritidis* in chickens. **Avian Diseases**. v.41, p.354-360, 1997.

NAKAMURA, M.; NAGATA, T.; OKAMURA, S.; TAKEHARA, K.; HOLT, P.S. The effect of killed *Salmonella enteritidis* vaccine prior to induced molting on the shedding of *S. enteritidis* in Laying Hens. **Avian Diseases**. v.48, p.183-188, 2004.

NASCIMENTO, M.S.; BERCHIERI JÚNIOR, A.; BARBOSA, M.D.; ZANCAN, F.T.; ALMEIDA, W.A.F. Comparação de meios de enriquecimento e de plaqueamento utilizados na pesquisa de *Salmonella* em carcaças de frango e fezes de aves. **Brazilian Journal of Poultry Science**. v.2, n.1, Campinas. Jan/abr. 2000.

NASCIMENTO, V.P.; PIPPISALLE, C.T.; MORAES, H.L.S. *Salmonella enteritidis*: diagnóstico e implicação em saúde pública. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE PATOLOGIA Y PRODUCCION AVÍCOLA, 6., 1998, Santiago. **Anais**. Santiago: 1998. p.17-27.

NAVARRO, M.P. Métodos de laboratorio para la detección de *Salmonella enteritidis* y programas de seguimiento en reproductoras pesadas. In: VIII SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE PATOLOGIA AVIAR, 1994, Athens. **Anais** Athens: AMEVEA, 1994. p.365-389.

NAVARRO, M.P. Infecção por *Salmonella enteritidis* em reprodutoras pesadas na América Latina. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1995, Curitiba. **Anais** Campinas: FACTA, 1995. p.7-16.

NICHOLAS, R.A.; CULLEN, G.A.; DUFE, P. Detection of salmonella. **The Veterinary Record**. v.126, n.6, 1990. Apud BEZERRA, R. **Recuperação e pesquisa de *Salmonella spp* e detecção de anticorpos em ovos comerciais de galinha *Gallus gallus* (Linnaeus, 1758)**. São Paulo, 1995. 59p. (Dissertação Mestrado em Epidemiologia Experimental e Aplicada a Zoonoses) – Universidade de São Paulo.

NICHOLAS, R.A.; CULLEN, G.A.; DUFE, P. Development and application of an ELISA for detecting antibodies to *Salmonella enteritidis* in chicken flocks. **The Veterinary Record**. v.128; p.74-76, 1991.

NOORDHVIZEN, J.P.; FRANKENA, K. *Salmonella enteritidis*: clinical epidemiological approaches for prevention and control of *Salmonella enteritidis* in poultry production. **International Journal of Food Microbiology**. v.21, p.131-143, 1994.

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

OCHOA, I.M.F.; RODRIGUEZ, A.R. Mecanismos moleculares de ptogenicidad de *Salmonella* sp. **Revista Latinoamericana de Microbiologia**. v.47, p.25-42, 2005.

OKAMURA, M.; KAMIJIMA, Y.; MIYAMOTO, T.; TANI, H.; SASAI, K.; BABA, E. Differences among six *Salmonella* serovars in abilities to colonize reproductive organs and to contaminate eggs in laying hens. **Avian Diseases**. v.45, p.61-69, 2001.

OKAMURA, M.; TACHIZAKI, H.; KUBO, T.; KIKUCHI, S.; SUZUKI, A.; TAKEHARA, K.; NAKAMURA, M. Comparative evaluation of a bivalent killed *Salmonella* vaccine to prevent egg contamination with *Salmonella entérica* serovars Enteritidis, Typhimurum, and Gallinarum biovar Pullorum, using 4 different challenge models. **Vaccine**. v.25, p.4837-4844, 2007.

OLIVEIRA, D.D.; SILVA, E.N. Salmonela em ovos comerciais: ocorrência, condições de armazenamento e desinfecção da casca. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.52, n.6, p.655-661, 2000.

OLIVEIRA, W.F.; CARDOSO, W.M.; SALLES, R.P.R.; ROMAO, J.M.; TEIXEIRA, R.S.C ; CÂMARA, S.R.; SIQUEIRA, A.A.; MARQUES, L.C.L Initial identification and sensitivity to antimicrobial agents of *Salmonella* sp. isolated from poultry products in the State of Ceara, Brazil. **Brazilian Journal of Poultry Science**. v.8, n.3, p.193-199, 2006.

OPARA, O.O.; CARR, L.E.; RUSSED-COHEN, E.; TATE, C.R.; MALLINSON, E.T.; MILLER, R.G.; STEWART, L.R.; JOHNSTON, R.W.; JOSEPH, S.W. Correlation of

water activity and other environmental conditions with repeated detection of *Salmonella* contamination on poultry farms. **Avian Diseases**. v.36, p.664-671, 1992.

OPITZ, H.M.; PHILLIPS, R.A.; LAWRENCE, J.C.; FRANKLIN, J.A.; BEANE, D.J. Serum and yolk antibody test for *Salmonella enteritidis*. p80. Proc. of the forty-third western poultry disease conference, 1994.

OTOMO, Y.; ABE, K.; ODAGIRI, K.; SHIROTO, A.; TAKATORI, K.; HARA-KUDO, Y. Detection of *Salmonella* in Spent Hens and Eggs Associated with Foodborn Infections. **Avian Diseases**. v.51, p.578-583, 2007.

PAIVA, J.B.; STERZO, E.V.; RIBEIRO, S.A.; PEREIRA, E.A.; BERCHIERI JÚNIOR, A. Isolamento de *Salmonella*: Comparação das etapas de pré-enriquecimento e enriquecimento direto de amostras de fezes armazenadas por 24 e 96 horas. **Arquivos do Instituto Biológico**. São Paulo, v.73, n.3, p.263-269, 2006.

PALMER, S.; PARRY, S.; PERRY, D.; SMITH, R.; EVANS, M; NEHAUL, L.; ROBERTS, R.; WALAPU, M. The role of outbreaks in developing food safety policy: population based surveillance of *Salmonella* outbreaks in Wales 1986-98. **Epidemiology and Infection**. v.125, p.467-472, 2000.

PANISELLO, P.J.; ROONEY, R.; QUANTICK, P.C.; STANWELL-SMITH, R. Application of foodborne disease outbreak data in the development and maintenance of HACCP systems. **International Journal of Food Microbiology**. v.59, p.221-234, 2000.

PATRICIO, I.S. Manejo do ovo incubável da granja ao incubatório. In: MACARI, M.; GONZALES, E. **Manejo da Incubação**, Campinas: FACTA, 2003, p.163-179.

PELZER, K.D. Salmonellosis. **Zoonosis update**. v.195, n.4, p.456-463, 1989.

PEREIRA, V.L.A.; SILVA, G.M.; LEMOS, M. 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. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**. v. 6, n.3, p.156-161, 1999.

PERESI, J.T.M.; ALMEIDA, I.A.Z.C.; LIMA, S.I.; MARQUES, D.F.; RODRIGUES, E.C.A.; FERNANDES, S.A.; GELLI, D.S.; IRINO, K. Surtos de enfermidades transmitidas por alimentos causados por *Salmonella enteritidis*. **Revista de Saúde Pública**. v.32, n.5, p. 477-483, 1998.

PETERSEN, L. A comparison of EF-18 and modified brilliant green agar with lutensit for isolation *Salmonella* from poultry samples. **Acta Veterinary Scandinavica**. v.38, p.79-85, 1997.

PHILLIPS, R.A.; OPITZ, H.M. Pathogenicity and persistence of *Salmonella enteritidis* and egg contamination in normal and infectious bursal disease virus-infected leghorn chicks. **Avian Diseases**. v.39; p.778-787, 1995.

PINTO, A. **Ocorrência de enfermidades bacterianas transmitidas por alimentos no Estado do Rio Grande do Sul**. 1999, 124p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade de Santa Maria, Santa Maria, RS, 1999.

POPIEL, I.; TUMBULL, P.C.B. Passage of *Salmonella enteritidis* and *Salmonella thompson* through chick ileocaecal mucosa. **Infection and Immunity**. v.47, p.786-792, 1985.

POPOFF, M.Y.; LE MINOR, L. Formules antiigeniques des serovars de *Salmonella*. Paris: WHO, p.1-15, 1997.

POPPE, C. *Salmonella enteritidis* in Canada. **International Journal of Food Microbiology**. v.21, p.1-5, 1994.

POPPE, C.; DUNCAN, C.A.; MAZZOCCO, A. *Salmonella* contamination of hatching and table eggs: A comparison. **Canadian Journal Veterinary Research**. v.62, p.191-198, 1998.

PORTER JÚNIOR, R.E.; HOLT, P.S. Effect of induced molting on the severity of intestinal lesions caused by *Salmonella enteritidis* in chickens. **Avian Diseases**. v.37, p.1009-1016, 1993.

PORTER, S.B.; CURTISS, R. Effect of inv Mutations on *Salmonella* Virulence and Colonization in – Day – Old White Leghorn Chicks. **Avian Diseases**. v.41, p.45-47, 1997.

Programa Nacional de Sanidade Avícola: Atos Legais. Portaria nº8 de 23 de janeiro de 1995: Estabelece o Método Analítico de Carcaças de Aves e Pesquisa de *Salmonella*. Brasília, 1995. p.60.

President's Council on Food Safety, 1999. Egg safety from production to consumption: An action plan to eliminate *Salmonella* Enteritidis illnesses due to eggs. Washington, DC.

RAMPLING, A; UPSON, R.; PETERS, E.; ANDERSON, J.R.; WARD, L.R.; ROWE, B. *Salmonella enteritidis* phage type 4 infection of broiler chickens: a hazard to public health. *Lancet* 14:436-438, 1989.

RANTALA, M.; NURMI, E. Prevention of the growth of *Salmonella infantis* in chicks by flora of the alimentary track of chickens. **Poultry Science**. v.16, p.627-630, 1973.

REZENDE, C.S.M. **Ocorrência de *Salmonella* em lotes de frangos de corte de agroindústrias goianas: identificação sorológica e perfil de sensibilidade a antimicrobianos**. Goiânia, 2002. 73p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária- Sanidade Animal). Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás.

RIBEIRO, S.A.M. **Infecção Experimental por *Salmonella entérica* subsp *entérica* sorovar Kottbus em pintos de corte de um dia e em ovos férteis spf.** Jaboticabal, São Paulo, 2004. 34p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Universidade Estadual Paulista (UNESP).

RICHARDSON, K. Impacto da qualidade microbiológica da ração na contaminação de ovos e carcaças. In: IV SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE AVES E SUÍNOS-AVESUI. Florianópolis-SC, 2005. Disponível em <http://www.cnpsa.embrapa.br/ acesso> em 12 de julho de 2007.

RICHTER-DAHLFORS, A.; BUCHAN, A.M.; FINLAY, B.B. Murine salmonellosis studied by confocal microscopy: *Salmonella typhimurium* resides intracellularly inside macrophages and exerts a cytotoxic effect on phagocytes in vivo. **Journal Exp. Med.** v.186, p.569-580, 1997.

ROBERTS, T. *Salmonellosis* control: Estimated economic costs. **Poultry Science.** v.67, p.936-943, 1988.

ROCHA, P.T.; MESQUITA, A.J.; ANDRADE, M.A.; LOULY, P.R ; NASCIMENTO, M.N. *Salmonella* spp. in paper pads of chick boxes and organs of one-day-old-chicks. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.** v.55, n.6, p.672-676, 2003.

RODRIGUE, D.C.; TAUXE, R.V.; ROWE, B. International increase in *Salmonella enteritidis*: A new pandemic? **Epidemiology and Infection.** v.105, p.21-27, 1990.

RODRIGUES, D.P. Ecologia e prevalência de *Salmonella* spp. em aves e materiais avícolas. In: CONFERÊNCIA APINCO 2005 DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS AVÍCOLAS, 2005. **Anais...**Campinas: FACTA, 2005, v.2, p.223-228.

RODRIGUES, L.B. Serological study and detection of *Salmonella* sp. In hens from small production laying farms in the state of Rio Grande do Sul (Brazil). **Acta Scientiae Veterinarie.** v.31, p.71-72, 2003.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; TOLEDO, R.S. Enzimas e probióticos em rações para aves. In: V SIMPÓSIO ACETAV – Atualidades Avícolas, 1999, Fortaleza. **Anais** Fortaleza: ACETAV, 1999. p.09-17.

ROY, P.; DHILLON, A.S.; LAUERMAN, L.H.; SCHABERG, D.M.; BANDLI, D.; JOHNSON, S. Results of salmonella isolation from poultry products, poultry, poultry environment, and other characteristics. **Avian Diseases**. v.47, p.17-24, 2002.

RYCHILIK, I.; VAN KESTEREN, L.; CARDOVA, L.; SVESTKOVA, A.; MARTINKOVA, R.; SISAK, F. 1999. Rapid detection of *Salmonella* in field samples by nested polymerase chain reaction. **Letters in Applied Microbiology**. v.29, p.269-272.

SANTOME, V.; RAMIREZ, A.; ICOCHEA, E. Infeccion experimental con *Salmonella enteritidis* induce susceptibilidad a la colibacilosis en pollos de carne. In: XVI CONGRESSO LATINOAMERICANO DE AVICULTURA, 1999, Lima. **Anais** Lima: APA, 1999. p.274-277.

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.

SCHOWNI, J.L.; GLASS, K.A.; MCDERMOTT, J.L.; WONG, A.C.L. Growth and penetration of *Salmonella enteritidis*, *Salmonella heidelberg* and *Salmonella typhimurium* in eggs. **International Journal of Food Microbiology**. v.24, p.385-396, 1995.

SCUDERI, C.; FANTASIA, M.; FILETICE, E.; ANASTASIO, M.P. Foodborne outbreaks caused by salmonella in Italy, 1991-1994. **Epidemiology and Infection**. v.116, p. 257-265, 1996.

SEO, K.; HOLT, P.S.; BRACKETT, R.E.; GAST, R.K.; STONE, H.D. Mucosal humoral immunity to experimental *Salmonella enteritidis* infection in the chicken crop. **Avian Diseases**. v.46, p.1015-1020, 2002.

SILVA, E.N. Salmonelose: Problemas atuais de patologia aviária e saúde pública. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1991, Santos. **Anais** Campinas: FACTA, 1991. p.37-47.

SILVA, E.N. *Salmonella enteritidis* em aves e saúde pública. **Higiene Alimentar**. v.9, p.7-13, 1995.

SILVA, E.N. *Salmonella Enteritidis* em avicultura. O que de pratico podemos fazer? In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1996, Curitiba. **Anais** Campinas: FACTA, 1996. p.207-210.

SILVA, E.N. Mitos e realidade no controle de *Salmonella enteritidis* em matrizes. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1997, Campinas. **Anais** Campinas: FACTA, 1997. p.97-108.

SILVA, E.N. Medidas gerais de controle de *Salmonella* em frangos de corte. In: CONFERÊNCIA APINCO 2005 DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS AVÍCOLAS, Campinas. **Anais...** Santos-SP. 2005, p.229-237.

SILVA, E.N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, 1997. 295 p.

SILVA, E.N. Probióticos e prebióticos na alimentação de aves. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2000, Campinas. **Anais** Campinas: FACTA, 2000. p.240-251.

SILVA, E.N.; DUARTE, A. *Salmonella Enteritidis* em aves: Retrospectiva no Brasil. **Brazilian Journal of Poultry Science**. v.4, n.2, p.85-100, 2002.

SILVA, E.N.; OLIVEIRA, D.D. Salmonella em ovos comerciais: ocorrência, condições de armazenamento e desinfecção da casca. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.52, n.6, p. Belo Horizonte , 2000.

SKOV, M.N.; SPENCER, A.D.; HALD, B.; PETERSEN, L. NAUERBY, B.; CARSTENSEN, B.; MADSEN, M. The role of litter beetles as potential reservoir for Salmonella enterica and Thermophilic Campylobacter spp. between broiler flocks. **Avian Diseases**. v.48, p.9-18, 2004.

SLAVIN, D. *Cryptosporidium meleagridis* (sp.nov.) **Journal of Comparative Pathology**. v.65, p.262-266, 1995.

SMYSER C.F.; SNOEYENBOS, G.H. Evaluation of several methods of isolating salmonella e from poultry litter and animal feedstuffs. **Avian Diseases**. v.13 (1): p. 134-141, 1969.

SNOEYENBOS, G.H. An approach to identifying and maintaining *Salmonella*-free chickens. **Avian Diseases**. v.15, n.1, p.28-31, 1971.

SNOEYENBOS, G.H. O presente e o futuro do controle de Salmonella em aves. In: XII CONGRESSO BRASILEIRO DE AVICULTURA, 1991, Brasília. **Anais Brasília: UBA**, 1991. p.59-69.

SNOEYENBOS, G.H.; WILLIAMS, J.E. Salmonellosis, p-73-86: In: B.W. Calnek; H.J. Barnes; C.W. Beard; W.M. Reid & H.W. Yoder (ed) *Diseases of Poultry*, 9<sup>TH</sup> ED. Iowa State University Press, Ames.1991.

SOCKETT, P.N. The economic implication of human *Salmonella* infection. **Journal Applied Bacteriology**. v.71, p.289-295, 1991.

SONCINI, R.A.; BITTENCOURT, F.L. Contaminação dos ovos após a postura. In: MACARI, M.; GONZALES, E. (Ed). **Manejo da Incubação**, Campinas: FACTA 2003, p.433-453.

SONCINI, R.A.; MORES, M.A.Z.; COSTA, J.L.A. Transmissão horizontal de *Salmonella* Enteritidis em pintos de um dia. **Brazilian Journal of Poultry Science**. v.2, p.94, 2000.

SOTO, G.E. & HULTGREN, S.J. Bacterial Adhesins: Common themes and variations in architecture and assembly. **Journal Bacteriology**. v181, p.1059-1071, 1999.

SPACKMAN, D. *Salmonella* in poultry in the U.K. Observations and actions. WESTERN POULTRY DISEASE CONFERENCE, 1989, Sacramento. *Proceedings...s.n.*, p.207-210, 1989.

STACHISSINI, A.V.M.; RAMBOUSEK, M.J.; IBA, A.M.; BERCHIERI JÚNIOR, A. Controle da colonização do trato alimentar de aves através da administração prévia de carboidratos. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS – trabalhos de pesquisa, 1993, Santos. **Anais** Campinas: FACTA, 1993. p.56.

STADELMAN, W.J. The preservation of quality in shell eggs. In: STADELMAN, W.J. science and technology. 3 ed. Westport: AVI, 1986, p.63-96.

STEELE, J.H.; GALTON, M.M. Salmonellosis: IN: DAVIS, J.W. *et al.* (Eds.) Infectious and parasitic diseases of wild birds. Ames: The Iowa State University Press, 1971, p.51-58.

STERN, N.J.; COX, N.A.; BAILEY, J.S.; BERRANG, M.E.; MUSGROVE, M.T. Comparison of mucosal competitive exclusion and competitive exclusion treatment to reduce *Salmonella* and *Campylobacter* spp. colonization in broiler chickens. **Poultry Science**. v.80, p.156-160, 2001.

SULEIMAN, S.; OTHMAN, Z.; AZIZ, A.H. Isolation of enteric pathogens from Synanthropic flies trapped in downtown Kuala Lumpur. **Journal Vector Ecology**. v.25, p.156-160, 2000.

TAN, S.; GYLES, C.L.; WILKIE, B.N. Comparison of an LPS-specific competitive ELISA with a motility enrichment method (MSRV) for detection of *Salmonella typhimurium* and *S. enteritidis* in chickens. **Veterinary Microbiology**. v.56, p.79-86, 1997.

TAN, S.; GYLES, C.L.; WILKIE, B.N. Evaluation of an *aro A* mutante *Salmonella typhimurium* vaccine in chickens using modified semisolid Rappaport Vassiliadis medium to monitor faecal shedding. **Veterinary Microbiology**. v.54, p.2247-254, 1997a.

TANNOCK, G.W.; SMITH, J.M.B. A *Salmonella* carrier state involving the upper respiratory tract of mice. **Journal of Infectious Diseases**. v.123, p.502-506, 1971.

TAUNAY, A.E.; FERNANDES, S.A.; TAVECHIO, A.T.; NEVES, B.C.; DIAS, A.M.G.; IRINO, K. The role of public health laboratory in the problem of salmonellosis in São Paulo, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. v.38, n.2, p.119-127, 1996.

TAUXE, R.V. *Salmonella*: A postmodern pathogen. **Journal of Food Protection**. v.54, p.563-568, 1991.

TAUXE, R.V. Emerging foodborne diseases: An evolving public health challenge. **Centers Diseases Control Prevention**. Atlanta, special issue, v.3, 12 p., 1997.

TAVECHIO, A.T.; FERNANDES, S.A.; NEVES, B.C.; DIAS, A.M.G.; IRINO, K. Changing patterns of *Salmonella* serovars: increase of *Salmonella enteritidis* in São Paulo, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. v.38, n.5, p.315-322, 1996.

TAVECHIO, A.T.; GHILARDI, A.C.; PERESI, J.T.; FUZIHARA, T.O.; YONAMINE, E.K.; JAKABI, M.; FERNANDES, S.A. Salmonella serotypes isolated from nonhuman sources in São Paulo, Brazil, from 1996 through 2000. **Journal of Food Protection**. v.65, n.6, p.1041-1044, 2002.

TESSARI, E.N.C.; CARDOSO, A.L.P.S.; CASTRO, A.G.M.; ZANATTA, G.F., KANASHIRO, A.M.I. Incidência de *Salmonella* pintos de corte recém-nascidos. **Arquivos do Instituto Biológico**. São Paulo, v.70, n.3, p.279-281, jul/set., 2003.

THIAGARAJAN, D.; SAEED, A.M.; ASEM, E.K. Mechanism of transovarian transmission of *Salmonella enteritidis* in laying hens. **Poultry Science**. v.73, n.1, p.89-98, 1994.

THOMASON, B.M.; DODD, D.J.; CHERRY, W.B. Increased recovery of salmonellae from environmental samples enriched with buffered peptone water. **Applied Environmental Microbiology**. v.34, p.270-273, 1977.

THOMASON, B.M.; DODD, D.J. Enrichment procedures for isolation salmonellae from raw meat and poultry. **Applied Environmental Microbiology**. v.36, p.627-628, 1978.

THOMPSON, J.F.; KNUTSON, J.; ERNEST, R.A.; KUNEY, D.; RIEMAN, H.; HIMATHONGKHAN, S.; ZEIDLER, G. Rapid cooling of shell eggs. **Journal Applied Poultry Research**. v.9, p.258-268, 2000.

THORNE, G.M. *Salmonella*: the chickens and eggs. **Clinical Microbiology Newsletter**. v.13, n.1, p.66-72, 1991.

THORNS, C.J. Bacterial food-borne zoonoses. **Rev. Sci. Tech.** v.19, p.226-239, 2000.

THRELFALL, E.J. Antimicrobial drug resistance in *Salmonella*: problems and perspectives in food- and water-borne infections. **FEMS Microbiology Reviews**. v.26, p.141-148, 2002.

TIZARD, I. **Resistência a bactérias e organismos relacionados**. In: Introdução à Imunologia Veterinária. 2.ed., São Paulo: Livraria Roca Ltda, 1985. cap.13, p.180-193.

TODD, E.C.D. Foodborne disease in Canada: A 10-year summary, 1975-1984. Health Protection Branch, Health and Welfare Canada. p.1-39, 1991.

TOLLEFSON, L.; MILLER, M.A. Antibiotic use in food animals: controlling the human health impact. **Journal of AOAC International**. v.83, p.245-254, 2000.

TOWNSEND, S.M.; KRAMER, N.E.; EDWARDS, R.; BAKER, S.; HAMLIN, S.M.; SIMMONDS, M.; STEVENS, K.; MALOPY, S.; PARKHILL, J.; DOUGAN, G.; BÄUMLER, A. *Salmonella enterica* serovar Typhi possesses a unique repertoire of fimbrial gene sequences. **Infet. Immun.** v.69, p.2894-2901, 2001.

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.

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.

UGBOGU, O.C.; NWACHUKWU, N.C.; OGBUAGU, U.N. Isolation of *Salmonella* and *Shigella* species from house flies (*Musca domestica* L.) in Uturu, Nigeria. **African Journal of Biotechnology**. v.5, p.1090-1091, 2006.

US Department of Agriculture, 1998. Refrigeration and labeling requirements for shell eggs (Final Rule). Fed. Reg. 63, p.45663-45675.

USDA. Agricultural Research Service. Report of *Salmonella enteritidis* task force for research. ESDA, Washington, DC, p.1-34, 1988.

USDA. NAHMS Layers '99. *Salmonella enterica* serotype enteritidis in table in the U.S. USDA, Washington, DC, p.14, 2000.

VASQUEZ-TORRES, A.; JONES-CARSON, J.; BAUMLER, A.J.; FALKOW, S.; VALDIVIA, R.; BROWN, W.; LE, M.; BERGGREN, R.; PARKS, W.T.; FANG, F.C. Extraintestinal dissemination of *Salmonella* by CD18-expressing phagocytes. **Nature**. v.401, p.804-808, 1999.

VELGE, P.; CLOECKAERT, A.; BARROW, P. Emergence of *Salmonella* epidemics: the problems related to *Salmonella enterica* serotype Enteritidis and multiple antibiotic resistance in other major serotypes. **Veterinary Research**. v.36, p.267-288, 2005.

VIEIRA, S.L.; VIOLA, E.S. Respostas fisiológicas de suínos a dietas com misturas de ácidos orgânicos. In: AviSui 2004 III Seminário Internacional e Aves e Suínos, 2004, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.

VIORA, S.; ALSELMO, R. Comparación de la recuperación de *Salmonella* por separación inmunomagnética versus método convencional en carne de ave contaminada artificialmente. In: XVI CONGRESO LATINO AMERICANO DE AVICULTURA, 1999, Lima. **Anais** Lima: APA, 1999. p.319-320.

WEBSTER, A.B. Physiology and behavior of the hen during induced molt. **Poultry Science**. v.82, p.992-1002, 2003.

WEGENER, H.C.; HALD, T.; LO FO WONG, D.; MADSEN, M.; KORSGAARD, H.; BAGER, F.; GERNER-SMIDT, P.; MOLBAK, K. *Salmonella* control programs in Denmark. **Emerging Infectious Diseases**. v.9, p.774-780, 2003.

WHITE, P.L.; SCHLOSSER, W.; BENSON, C.E.; MADDOX, C.; HOGUE, A. Environmental survey by manure drag sampling for *Salmonella enteritidis* in chicken layer houses. **Journal of Food Protection**. v.60, p.1189-1193, 1997.

WHYTE, P; MC GILL, K.; COLLINS, J.D.; GORMLEY, E. The prevalence and PCR detection of *Salmonella* in raw poultry. **Veterinary Microbiology**. v.89, p.53-60, 2002.

WILDING, G.P.; BAXTER-JONES, C. 1984. In: Proceedings of the International Symposium on *Salmonella*, New Orleans, Louisiana. Philadelphia: American Association of Avian Pathologists, 1984. p.126-133.

WOODWARD,C.L.; KWON, Y.M.; KUBENA, L.F.; BYRD, J.A.; MOORE, R.W. NISBET, D.J.; RICKE, S.C. Reduction of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis colonization and invasion by an alfalfa diet during molt in Leghorn hens. **Poultry Science**. v.84, p.185-193, 2005.

WRAY, C.I.M. Survival and spread of pathogenic bacteria of veterinary importance within the environment. **Veterinary Bulletin**. v. 45, p.543-550, 1975.

WRAY, C.I.M.; DAVIES, R.H. Guidelines on detection and monitoring of *Salmonella* infected poultry flocks with particular reference of *S. Enteritidis*. **Bulletin of the World Health Organization**. v.73, p.1-48, 1994.

YOKOYAMA, H.; PERALTA, R.C.; UMEDA, K.; HASHI, T.; ICATLO, F.C.; KUROKI, M.; IKEMORI, Y.; KODAMA, Y. Prevention of fatal salmonellosis in neonatal calves, using orally administered chicken egg yolk *Salmonella*-specific antibodies. **American Journal Veterinary Research**. v.59, p.416-420, 1998.

YUNO, M.M.I.; TERZOLO, H.R., FERNANDEZ, H.D.; MA LENA, R.C.; AUTUNA, M.E. Evaluation of selective culture media for isolation of *Salmonella* from poultry. **Revista Argentina de Microbiologia**. v.27, p.57-69, 1995.

ZANCAN, F.T.; BERCHIERI JÚNIOR, A.; FERNANDES, S.A; GAMA, N.M.S.Q. *Salmonella* spp investigation in transport boxes of day-old birds. **Brazilian Journal of Microbiology**. v.31, n.3, p.229-232, 2000.

ZANSKY, S; WALLACE, B.; SCHOONMAKER-BOPP, D.; SMITH, P.; RAMSCY, P.; PAINTER, J.; GUPTA, A.; KALLURI, P.; NOVIELLO, S. Outbreak of Multidrug-Resistant *Salmonella* Newport --- United States, January-April 2002. *MMWR* 51: 545-548, 2002.

ZANUSSO, J.T. Perspectiva para os sistemas de produção alternativos de aves e suas dificuldades para a transição. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA E ZOOTECNIA, Simpósio sobre agricultura familiar e produção orgânica, 41, Campo Grande, 2004. **Anais...Campo Grande**, SBZ/EMBRAPA/CNPQC, 2004, Campo Grande, p.100-110.

ZHANG-BARBER, L.; TURNER, A.K.; BARROW, P.A. Vaccination for control of *Salmonella* in poultry. **Vaccine**. v.17, p.2538-2545, 1999.

ZIPRIN, R.L.; KOGUT, M.H. Efficacy of Two Avian *Salmonella*-immune Lymphokines Against Liver Invasion in Chickens by *Salmonella* Serovars with Different O-group Antigens. **Avian Diseases**. v.41, p.181-186, 1997.