



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

VALDEZ JUAL ROCHA GOMES FILHO

**INVESTIGAÇÃO MICROBIOLÓGICA EM GALINHAS DE FUNDO DE
QUINTAL (*Gallus gallus domesticus*) E OVOS DE FEIRA LIVRE NA CIDADE
DE FORTALEZA - CEARÁ**

Fortaleza, Ceará

2013

VALDEZ JUAL ROCHA GOMES FILHO

**INVESTIGAÇÃO MICROBIOLÓGICA EM GALINHAS DE FUNDO DE
QUINTAL (*Gallus gallus domesticus*) E OVOS DE FEIRA LIVRE NA CIDADE
DE FORTALEZA - CEARÁ**

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

Área de concentração: Reprodução e sanidade animal
Linha de Pesquisa: Sanidade de aves
Orientador: Prof. Dr. William Cardoso Maciel
Co-Orientador: Dr. Régis Siqueira de Castro Teixeira

Fortaleza, Ceará

2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Estadual do Ceará
Biblioteca Central Prof. Antônio Martins Filho
Bibliotecário (a) Leila Cavalcante Sátiro – CRB-3 / 544

G633i Gomes Filho, Valdez Rocha.

Invertigação microbiológica em galinhas de fundo de quintal (*Gallus gallus domesticus*) e ovos de feira livre na cidade de Fortaleza – Ceará / Valdez Rocha Gomes Filho. — 2013.

CD-ROM 90f. : il. (algumas color.) ; 4 ¾ pol.

“CD-ROM contendo o arquivo no formato PDF do trabalho acadêmico, acondicionado em caixa de DVD Slin (19 x 14 cm x 7 mm)”.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual do Ceará, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias Mestrado Acadêmico em Ciências Veterinárias, Fortaleza, 2013.

Área de Concentração: Reprodução e Sanidade Animal.

Orientação: Profª. Drª. William Cardoso Maciel.

Co-orientação: Prof. Dr. Régis Siqueira de Castro Teixeira.

1. *Salmonella spp.* 2. Galinha. 2. Fundo de quintal. 3. Ovos. I. Título.

CDD: 636.089

VALDEZ JUVAL ROCHA GOMES FILHO

INVESTIGAÇÃO MICROBIOLÓGICA EM GALINHAS DE FUNDO DE QUINTAL (*Gallus gallus domesticus*) E OVOS DE FEIRA LIVRE NA CIDADE DE FORTALEZA - CEARÁ

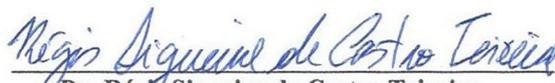
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias.

Defesa em: 18 / 07 / 2013 Conceito obtido: Aprova 100%

Banca Examinadora



Prof. Dr. William Cardoso Maciel
(Orientador)
Universidade Estadual do Ceará - UECE



Dr. Régis Siqueira de Castro Teixeira
(Examinador Co-orientador)
Universidade Estadual do Ceará- UECE



Prof. Dr. Isaac Neto Goes da Silva
(Examinador)
Universidade Estadual do Ceará - UECE



Dra. Rosa Patricia Ramos Salles
(Examinadora)
BIOLAB

A minha avó Maria Costa Coura – Cristina (*in memoriam*)
e Maria Josefa da Conceição – Dudu (*in memoriam*)
por terem me ensinado o que é o verdadeiro sentido do AMOR.

Dedico

A Deus que me proporcionou ser o que sou diante de todas as dificuldades e resignação para nunca desistir diante dos obstáculos e me fazer conhecedor de que não importa o tamanho da montanha, pois ela nunca poderá tampar o sol.

A todos os meus professores que contribuíram diretamente ou indiretamente na minha formação e nas minhas decisões em especial ao Professor Hélio Paiva (*in memoriam*).

A minha mãe Glória Cele Coura Gomes e ao meu pai Valdez Juval Rocha Gomes que me deram o dom da vida e lutaram até o fim para que eu sobrevivesse diante os meus problemas de saúde e que sempre me apoiaram, incentivaram e me deram forças para eu conseguir meus objetivos.

Aos meus irmãos Danilo José Coura Gomes e Jorge Augusto Coura Gomes que sempre torceram pelo meu crescimento profissional.

A todos os meus amigos que são sem dúvida nenhuma irmãos e irmãs que pude escolher, quem nunca teve ou tem um?

A todos os meus ex-alunos que o tempo só nos mostrou que somos amigos e companheiros, e saber que podemos sonhar acreditar e crescer juntos em várias realizações das nossas vidas e saber que vocês conseguiram alcançar seus objetivos em especial aos alunos da Escola de Educação Profissional Marly Ferreira Martins.

Não podendo esquecer as galinhas que contribuíram na realização desse trabalho.

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual do Ceará – UECE representada pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias (PPGCV) e ao seu corpo docente e por todos os meus outros professores que contribuíram diretamente ou indiretamente na minha formação, nas minhas decisões e nas transmissões do saber, em especial ao Professor Hélio Paiva (*in memoriam*).

Ao Laboratório de Estudos Ornitológicos - LABEO, pela confiança que me foi concedida em me proporcionar conhecer a Ornitologia e a pesquisa científica.

A CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pelo apoio financeiro com a manutenção da bolsa de auxílio durante o curso de mestrado, contribuindo para a finalização de uma importante etapa da minha vida.

À Fundação Oswaldo Cruz, onde as amostras foram sorotipadas.

Aos proprietários que permitiram eu realizar as coletas em suas residências.

Ao meu orientador Prof. Dr. William Cardoso Maciel que me permitiu a oportunidade de realizar o mestrado.

Obrigado aos membros da banca examinadora Dr. Rosa Patrícia Ramos Salles e Régis Siqueira de Castro por terem dedicado parte do seu tempo nas correções, pelos comentários e sugestões apresentadas com o objetivo de valorizar o trabalho.

Ao meu co-orientador, psicólogo, conselheiro, incentivador, amigo e terapeuta Régis Siqueira de Castro Teixeira por toda a ajuda científica em me fazer um cidadão melhor e acreditar no meu potencial como pesquisador e obrigado também por todas as vezes que você sentou do meu lado e me orientou qual o melhor caminho a seguir diante das dificuldades.

A Dr. Rosa Patrícia Ramos Salles que me apoiou e encorajou nessa caminhada com seus ensinamentos e contribuições fundamentais para meu trabalho e sem esquecer da sabedoria compartilhada e do carinho.

A Ana Lourdes Camurça Fernandes Vasconcelos, Cláudio Cabral Campello e a Cláudia Maria Leal Beviláqua pelas contribuições epidemiológicas e estatísticas no meu trabalho e por me apresentarem os melhores caminhos a seguir na nos caminhos da epidemiologia.

A Elisângela de Souza Lopes pela amizade, companheirismo e incentivo. Agradeço-te por tudo o que você me ensinou e contribui na minha vida e sem esquecer das nossas longas conversas pessoalmente ou por telefone, foram muitas e muitas conversas. Obrigado por tudo. E sem esquecer de todos os conselhos que foram significativos nessa jornada.

Ao Átilla Holanda de Albuquerque por ter me apresentado o Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias - PPGCV- e seu corpo docente e me informar como era a vivência de cada parte do PPGCV antes de ser aluno do Mestrado e de fazer sempre o nosso dia melhor e mais divertido.



Ao Ruben Horn Vasconcelos por ter me auxiliado, ensinado e incentivado a sempre estudar mais e mais. Tenho orgulho de ter sido seu aprendiz. Você é um professor nato e nossos futuros alunos irão ser grandes felizardos, disso podemos ter certeza, e não poderia esquecer de agradecer as suas imitações, pois sem dúvida deixou a nossa rotina mais agradável e obrigado por nos proporcionar tantos momentos de alegria e risadas com seu jeito notável de ser.

A Roberta Cristina da Rocha e Silva pela sua capacidade crítica, pelos ensinamentos científicos, pelos conselhos e pela cooperação em tornar um pós-graduando competente.

A Windleyanne Gonçalves Amorim Bezerra pelo companheirismo e pelo conforto nos momentos decisivos e cruciais dessa intensa jornada com a conhecida frase “No final tudo vai dá certo”.

Aos estudantes de iniciação científica do LABEO: Isabel Cristina Lima Santos obrigado por sua sincera amizade, Suzan Vitória Girão Lima por todo suporte tecnológico que você me ensinou, Débora Nishi Machado por todas as suas colaborações de maneira altamente profissional.

A Valdiana da Silva Gomes pelas ajudas sempre prestadas, Clarisse Pessoa Almeida pela torcida, Felipe Pereira Sampaio pelo auxílio nas coletas, Ercília Maria Coelho de Carvalho e Ramon da Silveira Teles pelas contribuições no projeto.

A Erlilda Fernandes da Costa que foi minha guia por diversas favelas nos bairros Meireles e Praia do Futuro e pela disponibilidade e atenção prestada em todas essas localidades.

“O erro de um médico pode tirar uma vida;
O erro de um engenheiro pode tirar várias vidas;
O erro de um biólogo pode extinguir uma espécie ...”.

Rubens Pazza

RESUMO

A criação de galinhas de fundo de quintal no Brasil é uma atividade importante, uma vez pode oferecer proteína a baixo custo para famílias que vivem em condições de subsistência, assim como contribuir na geração de renda. Nesse tipo de criação, é comum observar que não ocorre nenhum programa de biosseguridade específico, as instalações avícolas apresentam-se precárias e os criadores não se preocupam com a qualidade da alimentação oferecida às aves, o que pode resultar em problemas sanitários. Em função de todas essas deficiências de biosseguridade observadas, especula-se que essas aves, assim como os seus subprodutos, sejam reservatórios de *Salmonella* spp., patógeno responsável por problemas infecciosos em seres humanos e em animais também responsável por perdas econômicas na avicultura industrial. A salmonelose é uma das zoonoses que trazem transtorno à saúde pública mundial devido à capacidade de causar toxi-infecção alimentar associada ao consumo de carne de aves e de produtos avícolas, podendo levar o indivíduo ao óbito. Devido a importância desse micro-organismo para saúde pública e pela escassez de publicações relacionados a esse tema no Brasil, esse trabalho teve como objetivo investigar a presença de *Salmonella* spp. em galinhas de fundo de quintal (GFQ) e realizar um levantamento das enterobactérias encontradas nos ovos comercializados nas principais feiras livres da cidade de Fortaleza. Foi realizada coleta de material cloacal em *swabs* em 405 galinhas caipiras de 18 criatórios e de dez ovos por propriedade para análise microbiológica do conteúdo interno e da casca. Nas feiras livres, foram adquiridos 90 ovos. Após coletados, os *swabs* cloacais foram colocados em Água Peptonada (AP) e em seguida foi transferido 0,1 mL e 1 mL da amostra para RV e Selenito Cistina contendo novobiocina (SCN), respectivamente. Após 24 horas a 37°C foi realizado plaqueamento em Ágar Verde Brilhante (AVB) e Ágar MacConkey (MC). As colônias suspeitas para *Salmonella* spp. foram submetidas à identificação bioquímica, sendo a temperatura e período de incubação padronizados em todas as etapas em 37°C/24h, respectivamente. Os ovos coletados nas propriedades foram quebrados em becker e incubados em estufa bacteriológica a 37°C/24h. Em seguida, com a utilização de *swabs*, o conteúdo interno dos ovos era recolhido e transferido separadamente para tubos contendo (RV) e para (SCN), contendo 10 mL respectivamente. Os ovos das feiras livres foram processados da mesma forma que os ovos das propriedades, sendo realizados testes bioquímicos adicionais. Não houve isolamento de *Salmonella* spp. nas amostras de *swabs* nem de ovos. Contudo, foi possível isolar *Escherichia coli*, *Citrobacter*, *Enterobacter* spp., *Proteus* spp., *Providencia* spp., *Klebsiella* spp., *Shigella* spp., *Yersinia* spp. dos ovos das feiras livres. De acordo com a metodologia utilizada, podemos sugerir que GFQ de Fortaleza possuem o *status* sanitário satisfatório em relação a *Salmonella* spp. Por outro lado, os ovos de feiras livres não apresentam boas condições higiênico-sanitárias em relação às enterobactérias em geral.

Palavras-chave: *Salmonella* spp . Galinha. Fundo de quintal. Ovos.

ABSTRACT

Backyard chicken rearing is an important activity in Brazil, since it provides low cost protein for the families that live in subsistence conditions and contributes to the family income. In this type of production, usually there are no specific biosecurity programs, the poultry facilities are precarious and the owners do not care for the quality of the feed provided to the animals, which may result in sanitary problems. Due to these biosecurity deficiencies commonly observed, we speculate that these birds, as well as their byproducts, are reservoirs of *Salmonella* spp., which is a pathogen responsible for infectious problems in humans and in animals, but also economic losses in the poultry industry. Salmonellosis is a zoonosis of international concern for the public health due to the capacity of causing foodborne infections associated with the poultry meat and by products consumption, with the risk of death. Due to the importance of this microorganism to the public health and the scarcity of studies related to this theme in Brazil, this study aimed to investigate the presence of *Salmonella* spp. in backyard chickens (BYC) and to perform a survey of Enterobacteriaceae in eggs commercialized in the main free markets of Fortaleza city. Individual cloacal swabs were collected from 405 backyard chickens from 18 houses and 10 were also collected for analysis of eggshell and internal content from each sampled household. From the free markets, 90 eggs were collected. Once sampled, the swabs were incubated in Peptone Water and aliquots of 0.1mL and 1mL were placed in Rappaport-Vassiliadis broth and Selenite-Cystine broth added Novobiocin, respectively. After 24h at 37°C, aliquots of each broth were streaked in plates containing Brilliant Green agar and MacConkey agar. Suspect colonies for *Salmonella* spp. were submitted to biochemical identification, with the temperature and incubation time standardized in 37°C/24h in all incubation steps. Eggs collected from houses were broken in sterile beaker and maintained in bacteriological incubator at 37°C/24h. After such period, aliquots were collected with swabs and transferred to tubes containing 10mL of Rappaport-Vassiliadis broth and Selenite-Cystine broth added Novobiocin following the same bacteriological procedure mentioned previously for swabs. Eggs from free markets were analyzed with the same methodology as the house eggs, minus the antibiotic Novobiocin in the Selenite-Cystin broth, and with further biochemical tests used to identify the different members of the Enterobacteriaceae family. No *Salmonella* spp. were isolated from *swab* or egg samples. However, *Escherichia coli*, *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Proteus* spp., *Providencia* spp., *Klebsiella* spp., *Shigella* spp., *Yersinia* spp. were isolated from eggs of free markets. Accordingly to the methodology used, we may suggest that BYC from Fortaleza present a satisfactory sanitary status concerning *Salmonella* spp. However, free market eggs did not present adequate sanitary conditions related to the enterobacteria in general .

Keywords: *Salmonella* spp. Chickens. Backyard. Eggs.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AVB- Ágar Verde Brilhante

AP - Água Peptonada

GFQ - Galinhas de fundo de quintal

LABEO - Laboratório de Estudos Ornitológicos da FAVET/UECE

LIA - Ágar Lisina Ferro

MC- MacConkey

MAPA-Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

PCR- Reação em Cadeia pela Polimerase

pH - potencial hidrogeniônico

PNSA-Programa Nacional de Sanidade Avícola

RV- Rappaport-Vassiliadis

SC - Selenito-Cistina

SE - *Salmonella* Enteritidis

SC - Seletino-Cistina

SCN - Seletino-Cistina contendo novobiocina

SG - *Salmonella* Gallinarum

SIM – Sulfeto, Indol, Motilidade

SP - *Salmonella* Pullorum

TSI - Trílice Açúcar Ferro

VM - Vermelho de Metila

VP -Voges-Proskauer

LISTA DE TABELAS

- TABELA 1- Prevalência de galinhas de fundo de quintal positivas no teste de soroaglutinação rápida com antígeno “K” colorido para o diagnóstico de pulorose e tifo aviário..... 62
- TABELA 2- Perfil sanitário das propriedades criadoras de galinhas de fundo de quintal criadas na cidade de Fortaleza- CE..... 63
- TABELA 3- Resultados bacteriológicos dos contaminantes das cascas e do conteúdo interno dos ovos das galinhas de fundo de quintal comercializados nas feiras livres de Fortaleza..... 64

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1- Regionais da cidade de Fortaleza (CE).....	61
------------------------------------------------------	----

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 Avicultura no Brasil	18
2.2. Sistema de criação convencional	18
2.3 Sistema de criação caipira	19
2.4 Etiologia da <i>Salmonella</i> spp.	20
2.5 Epidemiologia (Transmissão da salmonelose)	22
2.6 Patogenia	26
2.7 Patologia	28
2.8 Diagnóstico	29
2.8.1 Sorológico	30
2.8.2 Cultivos bacteriológicos na microbiologia convencional para o isolamento de <i>Salmonella</i> spp.	31
3. PREVENÇÃO E CONTROLE	34
4. OVOS	36
5. GALINHAS DE FUNDO DE QUINTAL E SALMONELOSES	42
6. JUSTIFICATIVA	45
7. HIPÓTESE CIENTÍFICA	46
8. OBJETIVOS	47
8.1 OBJETIVO GERAL	47
8.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	47
9. CAPÍTULO 1. Investigation of <i>Salmonella</i> spp. in backyard chickens (<i>Gallus gallus domesticus</i>) and enterobacteria in eggs sold in street markets in the city of Fortaleza - Ceará	48
10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65
11. APÊNDICE	85

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior exportador de carne de frango do mundo (VIEIRA, 2011) e ocupa a sétima posição do *ranking* mundial na produção de ovos (UBA, 2011). As precauções com a incidência de alguns patógenos ganharam destaque em função do desenvolvimento da avicultura industrial em nosso país, pois a concentração de animais favorece a disseminação de agentes infecciosos. Os países importadores nos dias atuais estão mais exigentes, estabelecendo barreiras sanitárias cada vez mais rigorosas, envolvendo desde a matéria-prima empregada na alimentação das aves até o controle microbiológico do produto final destinado ao consumidor (BOLDRIN, 2010).

A galinha que é criada em residências de maneira não comercial pode ser chamada como galinhas pé duro, caipira ou dos terreiros, podem ser denominadas também de Frango Colonial, Frango Tipo Caipira, Frango Estilo Caipira, Frango Tipo Colonial, Frango Estilo Colonial e Frango Verde. Contudo deve-se levar em conta a relação dos termos regionais de um uso mais restrito, como é o caso do Frango da Roça, Frango de Capoeira, Galinha de Pé Duro, Galinha Nativa e Frango Índio que podem ser considerados sinônimos sob a denominação de galinhas nativas (FIGUEIREDO et al., 2001).

Neste trabalho iremos utilizar a nomenclatura de GFQ para referirmos à criação de galinhas não industriais criadas em residências, de forma extensiva, sem controle de alimentação e água, conhecidas no nosso estado como galinhas caipiras.

Um dos maiores problemas enfrentados na produção caipira é a falta de fiscalização relacionada ao uso de produtos químicos e sanidade das aves (ARENALES, 2001). Essa falta de vistoria pode ocasionar infecções em humanos que são originadas por diversos tipos de produtos alimentares derivados da carne, ovos, aves de criação convencional. Outros meios de infecção podem ocorrer pela ingestão de alimentos e água contaminados por fezes de roedores, alimentos contaminados pelos manipuladores e por contato com equipamentos e utensílios contaminados. Esporadicamente ocorre contaminação a partir do contato direto com um animal ou pessoa infectada (CARTER, 1988). O agente causador da doença também pode ser transmitido por moscas e utensílios contaminados (KRUININGEN, 1998).

A criação de galinhas caipiras é uma atividade habitual, pois em decorrência da pobreza e da falta de assistência à população mais carente, exerce uma notável função social para algumas famílias, pois as mesmas representam uma fonte de proteína para o consumo

próprio ou de renda para os criadores e comerciantes locais, além de ser uma atividade de baixo custo de implantação e de manutenção (NUNES, 2008).

Medidas de vigilância e defesa sanitária são adotadas pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) e pela indústria para manter um bom *status* sanitário. Apesar deste sistema de biosseguridade aplicado às criações comerciais, populações de aves conhecidas como galinhas caipiras encontram-se fora deste controle sanitário. (MARCHESI et al., 2013).

Com relação à presença de *Salmonella* spp. em galinhas caipiras, BAILEY e COSBY (2005) detectaram a presença deste micro-organismo originários de sistemas de produção semi-intensivo, sugerindo que as aves caipiras, são mais susceptíveis à infecção por *Salmonella* spp., pois essas aves possuem livre acesso a uma área de pastejem, contato com aves sinantrópicas, insetos e outros veiculadores potenciais de *Salmonella* spp. Assim, na maioria das vezes, as aves industriais proporcionaram melhor qualidade microbiológica, com menor contaminação por Coliformes fecais e mesófilos, além de menor percentual de ocorrência de *Salmonella* spp.

As aves criadas nessas condições têm como a maior finalidade o consumo próprio ou comercialização local, sendo inexistentes na maioria das vezes as instalações adequadas, bem como, a adoção de práticas de manejo que contemplem com eficiência os aspectos sanitários (GALVÃO JÚNIOR, 2009; BENTO, 2009; SOUZA, 2009).

Diante desse contexto relacionado à biosseguridade nas criações, existe uma preocupação da indústria avícola em relação às galinhas de fundo de quintal (GFQ), por não estarem incluídas nesse sistema de biosseguridade aplicado às criações comerciais (MARCHESI et al., 2013). Portanto, o objetivo desse trabalho foi investigar a presença de *Salmonella* spp. em ovos e galinhas de fundo de quintal de criadores pertencentes à Fortaleza-CE, assim como, em ovos de feiras livres.

Em função de todas essas deficiências de biosseguridade observadas nas criações das GFQ, especula-se que essas aves, assim como os seus subprodutos, sejam reservatórios de *Salmonella* spp., podendo ser, desta forma, importantes nos casos de problemas infecciosos em seres humanos e em animais. Pesquisas relacionadas ao monitoramento bacteriológico em aves criadas em fundo de quintal, assim como em seus subprodutos, ainda são bastante escassas na literatura científica. No Nordeste brasileiro, região em que muitas famílias utilizam esse tipo de criação e fornecem a população carne e ovos para consumo, torna-se

relevante a investigação bacteriológica para conhecer a real situação da presença de *Salmonella* spp.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Avicultura no Brasil

A galinha (*Gallus gallus domesticus*) foi um dos primeiros animais domésticos que chegaram de Portugal ao Brasil, junto com os navios da expedição de Pedro Álvares Cabral, ainda no período colonial da história brasileira. Esse acontecimento está descrito na carta de Pero Vaz de Caminha na ocasião do descobrimento (HELLMEISTER FILHO, 2002).

No início do século XX, a avicultura era conhecida como “Colonial”. As aves eram criadas soltas e sem critério específico de produção. A década de 30 e 40, foi denominada de período “Romântico” da Avicultura, devido à valorização de características relacionadas à beleza da ave, cores das penas, tamanho da ave, forma das cristas e barbelas. Entre as décadas de 40 a 60, época de escassez de alimentos provocada pela Segunda Guerra Mundial, a avicultura passou pelo período das “Aptidões Mistas”, onde as aves passaram a ter a finalidade de produzir carne e ovos, sendo criadas em sistema de parques com acesso livre a áreas de pasto e também dentro de galpões. Entre 1960 a 1970, a avicultura começou a se moldar, culminando com a criação industrial (HELLMEISTER FILHO, 2002).

Na atual fase, denominada de “Especialização de Raças”, as aves passaram a ser criadas dentro de galpões, sendo a avicultura posteriormente conhecida, entre a década de 70 e 75, como período “Super Industrial”, onde as linhagens comerciais, no sistema de confinamento, passaram a dominar o mercado com excelentes resultados de produção. Entre 1975 e 1988 surgiu o período de “Exportação” no qual o frango inteiro foi o principal produto e, a partir de 1988, com as mudanças das exigências no mercado consumidor nacional e internacional, deu-se início ao período de “Processamento”, no qual os mais variados tipos de produtos oriundos a partir da carne do frango e dos ovos tomaram conta do mercado (HELLMEISTER FILHO, 2002).

2.2. Sistema de criação convencional

Existem vários sistemas de criação de galinhas, sendo o mais difundido o sistema de criação convencional, por apresentar altos índices de produção e custos relativamente baixos. A utilização desse padrão tecnológico está relacionada à conjuntura mundial no

período pós-Segunda Guerra, onde a preocupação maior era produzir alimentos em grande escala para a população. Várias técnicas foram desenvolvidas para alcançar maior produtividade e menor custo. Dessa forma, foi observado que a alimentação, nutrição, sanidade, ambiente e manejo devem estar harmonizados para propiciar a expressão de todo o potencial das poedeiras comerciais (PASIAN, 2006).

Embora a produção convencional tenha ainda muitos problemas relacionados ao bem-estar, ainda é esta que garante que a população de mais baixa renda tenha acesso às fontes de proteína animal.

A criação industrial proporciona ganhos econômicos, porém utiliza algumas práticas de manejo controversas como a debicagem, elevada densidade, gaiolas pequenas, piso inadequadas, ferindo os princípios do bem-estar animal, por restringir o comportamento natural do animal (PASIAN, 2006).

2.3 Sistema de criação caipira

No Brasil, aproximadamente 80% das propriedades rurais adotam este tipo de criação, contribuindo para melhorar a alimentação das famílias, auxiliando na renda familiar (ARGOLO e LIMA, 2006).

BARBOSA et al. (2013) afirmam que, de maneira tradicional, as galinhas caipiras se caracterizam pela sua forma de exploração extensiva, na qual não existem instalações específicas, bem como as boas práticas de manejo que favoreçam de maneira eficiente os aspectos reprodutivos, sanitários e nutricionais. Este fato implica em níveis de fertilidade e natalidade diminuídos.

No entanto, a galinha caipira criada de forma caseira e comumente criada por uma grande parcela da população do meio rural e urbano, possui um mercado consumidor de ovos e carnes bem específicos. Os ovos do tipo caipira vendidos em estabelecimentos comerciais são produzidos em um sistema de criação chamado de “caipira” ou “colonial” com controle de doenças, da alimentação e do desenvolvimento do animal. Além disso, atualmente já existem linhagens desenvolvidas para a finalidade de auxiliar esse tipo específico de criação (SILVA, 2004).

Existe outro tipo de criação popularmente conhecida como “criação caipira”. Segundo SILVA (2004), este tipo de criação pode ser dividida em duas categorias: a primeira normalmente ocorre nas criações em fundo de quintal, originando produtos caipiras, enquanto a segunda categoria é constituída por galinha caipira industrial ou frango de corte que são

criados no sistema semi-intensivo ou no sistema caipira de criação, não se tratando de uma criação completamente desorganizada. A principal diferença entre as duas criações se dá em relação ao melhoramento genético que irá influenciar na produtividade, sendo o segundo tipo mais rentável.

A criação em estilo colonial de frangos de corte está normatizada pelo no Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento no ofício circular DOI/DIPOA nº 007/99 de 19/05/99 (MAPA, 1999) que trata do registro do produto Frango Caipira ou Colonial. Esse documento determina que se devem utilizar linhagens específicas, de crescimento lento, para chegar ao peso ideal de abate com a idade mínima de 85 dias. Durante também que os pintos precisam ter acesso ao piquete a partir dos 28 dias de idade e que em nenhuma fase da vida sejam alimentados com rações contendo promotores de crescimento, nem subprodutos de origem animal, como farinhas de carne, por exemplo. Citado por AVELAR (2012) foi publicado no Ofício Circular DIPOA Nº 02/2012 (MAPA, 2012) que preconiza a diminuição do tempo de abate em 14 dias, acontecendo então para 70 dias.

2.4 Etiologia da *Salmonella* spp.

Salmonelas são bactérias pertencentes à família *Enterobacteriaceae*, é composta pelas espécies *S. enterica* e *S. bongori*, sendo que a primeira possui seis subespécies: subespécie *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica*. A espécie *S. bongori* possui 22 sorotipos e as subespécies de *S. enterica* possuem mais de 2400 sorotipos (POPOFF; BOCKEMUHL; GHEESLING, 2004). Uma terceira espécie denominada de *S. subterrânea* foi descrita por SHELOBOLINA et al. (2004), mas, de acordo com GRIMONT e WEILL (2007), esta não pertence ao gênero *Salmonella*. Entretanto mesmo com análises fisiológicas e filogenéticas recomendando a criação de uma nova espécie, em documento oficial do Instituto Pasteur, que moderniza as fórmulas antigênicas de *Salmonella* spp., esta espécie não pertence ao gênero *Salmonella* spp.

São patógenos que crescem em caldos nutrientes simples e nos meios seletivos, caldo ou ágar, para enterobactérias. Entre esses meios estão o caldo selenito e o tetracionato e suas modificações. Para plaqueamento têm-se os meios ágar verde brilhante, ágar MacConkey, ágar *Salmonella Shigella*, sulfito de bismuto e outros (JÚNIOR; MACARI, 2000). São bactérias do tipo bastonete, Gram-negativos, não formadores de esporos, anaeróbios facultativos, com cerca de 2 a 5 µm de comprimento por 0,7 a 1,5 µm de largura. Devido aos flagelos peritríquios, são móveis, no entanto, algumas salmonelas não possuem

flagelos, portanto são imóveis, como *Salmonella* Gallinarum e *S. Pullorum* (BIER, 1976; BERCHIERI JR, 2000; ITO et al., 2004).

Com relação ao pH, a *Salmonella* spp. se desenvolve intervalo de 4,5 a 9,0, com crescimento ótimo na faixa de 6,5 a 7,5. Comumente, em pH abaixo de 4,0 e adiante de 9,0 as salmonelas são vagorosamente destruídas (COSTA, 1996). São bactérias do tipo mesófilas, com temperatura de desenvolvimento ótimo de 35 a 37 °C. As maiorias dos sorovares é produtora de sulfeto de hidrogênio (H₂S), lisina e ornitina descarboxilase positiva, mas negativas para indol e urease (CAMPOS, 2002).

As bactérias do gênero *Salmonella* spp. são resistentes ao calor, porém não resistem à temperatura de 55 °C por 1 hora ou em 60 °C por 15 a 20 minutos (GAMA, 2001). O crescimento é demorado em baixas temperaturas, no entanto a influência dessa variável é significativa no comércio de produtos de origem avícola (GAST e HOLT, 2001).

A nomenclatura mundialmente aceita é a proposta pelo esquema White-Kauffmann-Le Minor, desde que L. Le Minor descreveu a maior parte dos sorotipos conhecidos (GRIMONT e WEILL, 2007).

A sorotipagem de acordo com a nomenclatura Kauffmann-White é um método muito utilizado para a caracterização inicial de isolados de *Salmonella* spp. e possui como fundamentos a variabilidade antigênica dos antígenos somáticos (O) de natureza polissacarídica, e flagelar (H) de natureza proteica, presentes na parede celular do organismo (BALE et al., 2007).

As salmoneloses aviárias são doenças causadas por bactérias do gênero *Salmonella* spp. em aves. A infecção pode originar três doenças: pulorose, cujo agente é a *Salmonella* Pullorum, tifo aviário, causado por *S. Gallinarum* e paratifo aviário, causado por qualquer outra salmonela que não seja *S. Pullorum* ou *S. Gallinarum*.

Salmonella Pullorum é uma bactéria específica das aves, como perus e galinhas, portanto não é considerada importante em termos de saúde pública já que não afetam o homem. Devido a sua gravidade para as aves, é uma doença de sacrifício e notificação obrigatória no Brasil e na maioria dos países com avicultura industrial (BACK, 2010). O maior custo econômico da pulorose ao longo dos últimos 20 anos é devido aos testes para certificar que os plantéis de aves e perus estejam livres da infecção (SHIVAPRASAD e BARROW, 2008).

O tifo aviário, causado por *S. Gallinarum* é uma doença que acomete principalmente aves adultas e é caracterizado por diarreia, hepatomegalia, esplenomegalia e

mortalidade. A pulorose possui sinais clínicos semelhantes (BACK, 2010; HIRSH, 2004). O tifo aviário é uma enfermidade de distribuição mundial, que tem estado sob controle em países da Europa e da América do Norte. O tifo aviário tem sido descrito em países cuja avicultura industrial está em desenvolvimento e naqueles onde se encontram aves criadas livremente (BERCHIERI JR e FREITAS NETO, 2009).

O paratifo aviário é a denominação empregada para designar a infecção causada por micro-organismos do gênero *Salmonella enterica* subsp. *enterica* (BACK, 2010). Localizado em todo o mundo, pode infectar um grande número de hospedeiros (GAST, 2008). A entrada, alojamento, permanência e disseminação dessas salmonelas no sistema intensivo de criação adotado na avicultura industrial são favorecidas pela presença do patógeno. Dessa forma, a infecção paratífica aviária tornou-se uma dificuldade para os avicultores, apesar de muitas vezes tenha passado despercebida (BERCHIERI JUNIOR e FEITAS NETO, 2009). A infecção paratífóide tem sido classificada como importante agente de doença transmitida por alimento ao homem, o controle de infecção paratífóide em plantéis de aves tem assim tornado-se um importante objetivo para ambas as perspectivas econômicas e de saúde pública (GAST, 2008).

2.5 Epidemiologia (Transmissão da *Salmonelas* spp.)

De acordo com ANDREATTI-FILHO e SINDIAVIPAR citado por BONA et al. (2012) técnicos de diferentes países acordam que é praticamente impossível eliminar a *Salmonella* spp., dos plantéis e controlar a sua transmissão em virtude de sua capacidade de invadir o trato digestório dos animais e por possuir um grande número de reservatórios envolvidos na excreção fecal e infecção do ambiente. Todos os sorotipos, até os que têm implicação na saúde pública, devem ser permanentemente monitorados e controlados (ANDREATTI-FILHO et al., 2009; SINDIAVIPAR, 2011).

A via oral é a porta de entrada da infecção mais comum, mas pode ocorrer a transmissão aerógena a partir da poeira contaminada proveniente das fezes, penas e através do ovo (RUPLEY 1999). Segundo AKHTER et al. (2010) muitas doenças são transmitidas através do contato direto ou indireto com aves doentes ou portadoras e as bactérias são as causas mais corriqueiras. As aves infectadas transmitem salmonela através da via horizontal através da contaminação de fezes, água, poeira, fômites e pelo contato com animais domésticos, aves silvestres e outros seres vivos. A transmissão vertical ocorre quando os

folículos ovarianos estão infectados com a bactéria, logo os ovos em desenvolvimento no oviduto tornam-se infectados (POPPE, 2000).

A pulorose é uma doença exclusiva das aves que atinge na maioria das vezes aquelas com menos de três semanas de vida. É causada por *Salmonella Pullorum* sendo transmitida pela via horizontal. As aves adultas comumente são portadoras assintomáticas e poedeiras comerciais podem apresentar queda de aproximadamente 30% na postura (BERCHIERI JR e FREITAS NETO, 2009).

O tifo tem como agente causador *Salmonella Gallinarum* que acomete na maioria das vezes aves adultas ou semi-adultas, tendo como principal forma de transmissão à via horizontal. À necropsia, observa-se a presença de fígado “bronzado” (coloração marrom-esverdeada) (SHIVAPRASAD e BARROW, 2008).

Paratifo aviário é uma doença originada por qualquer sorotipo não adaptado às aves e *Salmonella Enteritidis* e *Salmonella Typhimurium* são os principais sorotipos causadores podendo ocasionar um quadro entérico, ou sistêmico, ou portadoras assintomáticas sendo que as aves adultas afetadas apresentam queda de postura. Estes sorotipos podem ficar no trato digestório de frangos até o período de abate e em poedeiras no sistema reprodutor e digestório facilitando o contágio de carcaças e ovos (GAST, 2008).

Segundo HOFER et al. (1997) a problematização do paratifo nas aves está na capacidade de produzir infecções subclínicas possibilitando a propagação do agente para outras espécies animais ao serem veiculados pelo ambiente contaminado e pelas fezes de aves infectadas.

As aves infectadas podem se tornar carreadoras do agente por um período de tempo ou por toda vida, com excreção intermitente de *Salmonella* spp. Estas bactérias permanecem viáveis dentro dos macrófagos e de células do sistema mononuclear fagocitário. A quantidade de lisozima em alguns tecidos das aves faz com que ocorra a remoção total da parede bacteriana, dando lugar à formação de um protoblasto, ou a remoção parcial, formando um esferoblasto, que é a chamada “Forma L”. A membrana das bactérias em “Forma L” é similar s membranas das células hospedeiras e por isso não são detectadas pelo sistema imune, não desencadeando resposta à presença do micro-organismo e, além disso, não sendo detectadas no exame bacteriológico (TERZOLO, 2011).

As salmonelas são amplamente distribuídas na natureza, sendo o principal reservatório destas bactérias, o trato intestinal do homem, de animais de sangue quente e de sangue frio (JAKABI et al., 1999), exceto peixes, moluscos e crustáceos, os quais podem, no

entanto, contaminar-se após a pesca. Entre os animais, as aves, como galinhas, gansos, perus e patos são os reservatórios mais importantes desse micro-organismo. Os animais domésticos tais como cães, gatos, tartarugas e pássaros podem ser portadores, representando grande risco, principalmente para as crianças (FRANCO e LANDGRAF, 1996).

Segundo FREITAS NETO et al., (2010), apesar da forte ligação entre o consumo de alimentos de origem animal e a salmonelose humana, as pessoas podem se contaminar por outras vias, tais como a contaminação cruzada em cozinhas domésticas e comerciais, por contato com outras pessoas e animais (especialmente os cães, gatos e répteis), infectados, bem como por ingestão de legumes e frutas contaminados. Recentemente, um surto causado pela *S. enterica* sorovar Braenderup, notificado em 15 estados norte-americanos, onde 127 pessoas foram infectadas e 33 hospitalizadas, foi implicado ao consumo de mangas oriundas do México (CDC, 2012).

Nas criações industriais existe muita disponibilidade de alimentos de elevada qualidade, esterco e aves mortas. O galpão, por ser um local fechado, aquecido e protegido de chuvas e raios de sol, proporcionam a moradia e propagação ideais desses vetores (OVIEDO-RONDÓN, 2008).

Os roedores como, ratos e camundongos são conhecidos como fontes de *Salmonella* spp. e são atraídos para os aviários pela disponibilidade e fácil acesso de comida. Os ratos têm se mostrado importantes vetores de *S. Enteritidis* na propagação do patógeno (WRAY et al., 1998).

Tornou-se claro a participação das aves silvestres, que podem se contaminar e também disseminar a bactéria de forma mecânica através de suas patas (WRAY et al., 1998). *S. Typhimurium* é frequentemente encontrada no intestino destas aves, que se infectam pela ingestão de presas doentes ou por contaminação fecal (TIZARD, 2004).

O homem também pode ser um vetor mecânico, segundo a pesquisa de MORITA et al. (2005). Em seu estudo sobre as fontes de contaminação de *Salmonella* spp. em uma fábrica de ração, detectaram a presença do patógeno em todos os itens pesquisados: operadores, superfície das máquinas, piso da fábrica, poeira e roedores. Particularmente, concentrações elevadas do micro-organismo foram isoladas do piso da área de processamento, devido ao alto teor de óleo. Os roedores da mesma área também eram altamente contaminados, com 46,4% de isolamento. O percentual de detecção de *Salmonella* spp. nos sapatos dos operadores foi a mais alta dentre todos os vetores, revelando a importância de se

restringir o movimento de pessoas entre as áreas limpas e sujas da fábrica, evitando a disseminação do patógeno.

As infecções causadas por *Salmonella* Enteritidis (SE) e *Salmonella* Typhimurium (ST) são denominadas infecções paratifoídes, podendo se apresentar de forma aguda ou crônica em aves e mamíferos, inclusive o homem (GELLI, 1995).

A infecção geralmente é adquirida pela via oral (CARTER, 1988; LEVINSON E JAWETZ, 1998; STELLMACHER, 2005), mas pode ocorrer pelas vias aerógena, conjuntival, transovariana (STELLMACHER, 2005), nasal, cloacal e umbilical (COX et al., 1996). Introduzindo pela via digestiva a partir da ingestão de água e alimentos contaminados, as salmonelas chegam aos intestinos, onde se instalam e se multiplicam. Dependendo da espécie de *Salmonella* spp., do hospedeiro, da sua patogenicidade, da adaptação ao hospedeiro e idade deste, as salmonelas podem causar grave doença ou então passar despercebidas e permanecer no hospedeiro por meses ou anos, constituindo um reservatório da bactéria para animais (CORRÊA e CORRÊA, 1992).

Nas aves adultas, alguns sorovares de *Salmonella* spp. podem se localizar no aparelho genital, causando a infecção transovariana (BARROW, 2000 e ITO et al., 2004). Caracterizando-se assim a transmissão vertical, uma das principais formas de transmissão do tifo aviário e da pulorose (BERCHIERI JR, 2000 e SHIVAPRASAD, 2000). Quando acontece a transmissão vertical, caso o embrião sobreviva, pode ocorrer à contaminação do lote de aves (HUMBERT e SALVAT, 1997). A contaminação por *Salmonella* spp. é caracterizada como transmissão horizontal quando acontece após a postura, nos ninhos, nos galpões de matrizes, nos caminhões e nos incubatórios e nos os ovos incubados (ROCHA et al., 2003).

A contaminação de forma mecânica pode acontecer, quando em uma linha de produção uma carcaça contamina as outras e também pode ocorrer quando o homem e outros animais como ratos, baratas e outros insetos, carregam a salmonela de um local para outro. A bactéria pode ser eliminada pelas fezes e contaminar alimentos, água e cama do aviário (BERCHIERI JR, 2000 e ITO et al., 2004).

Na transmissão vertical as bactérias do gênero *Salmonella* spp. podem contaminar os ovos, através da infecção no oviduto resultando na contaminação da clara durante a formação do ovo ou ainda através de *Salmonella* spp. presente nas fezes que pode penetrar no ovo (WILLIAMS e DILLARD, 1968). Além disso, a contaminação externa da casca de um ovo íntegro pode resultar no estabelecimento da infecção do embrião durante a incubação.

Finalmente, a bactéria pode penetrar em ovos trincados em qualquer estágio da incubação antes da eclosão (BOARD, 1968).

2.6 Patogenia

O órgão de predileção da *Salmonella* spp. é o intestino, onde o patógeno se instala e se multiplica, conforme as espécies comprometidas por esse agente. Porém, se o agente ingressar em capilares sanguíneos, poderá ocorrer à forma septicêmica neste caso, ocorrem lesões hepáticas com acréscimo do volume do órgão e formação dos nódulos paratíficos, embora esses achados não sejam patognomônicos. Caso o agente chegue a ultrapassar o fígado poderá também ser observado nos pulmões provocando uma pneumonia lobular, geralmente grave (SATO et al., 1997).

Durante a necropsia, as lesões macroscópicas que podem ser observadas são: congestão do baço e fígado, presença de pequenos pontos brancos nas áreas de necrose no fígado, pele flácida com sinais de desidratação, saco da gema coagulado ou não absorvido, perihepatite, pericardite com aderências, rins congestionados, peritonite acompanhada ocasionalmente por focos necróticos e exsudato caseoso nos cecos (SILVA, 1996).

Pelo fato das bactérias do gênero *Salmonella* spp. serem invasivas, elas podem localizar-se no ovário das aves (FADDOUL e FELLOWS, 1966; SNOEYENBOS et al., 1969; TURNBULL e SNOEYENBOS, 1974; TURNBULL e RICHMOND, 1978).

Todavia, há várias outras possíveis maneiras pelas quais *Salmonella* spp. pode ser transmitida aos ovos. A infecção do oviduto pode resultar na formação de clara infectada durante a formação do ovo. A contaminação externa da casca de um ovo íntegro pode resultar no estabelecimento da infecção no pinto durante a incubação. Finalmente, a bactéria pode entrar em ovos trincados em qualquer estágio da incubação antes deles eclodirem (BOARD, 1968).

Durante a oviposição, muitas vezes os ovos são infectados por *Salmonella* spp., pela exposição às fezes, principalmente na passagem destes pela cloaca de aves portadoras. A penetração do patógeno dentro ou diretamente na casca do ovo e membrana da casca pode ocasionar uma transmissão direta da infecção para o embrião em desenvolvimento ou pode acarretar a exposição do pinto à infecção por *Salmonella* spp. quando a estrutura do ovo é rompida durante a incubação (GAST, 1997).

As bactérias do gênero *Salmonella* possuem preferência por colonizar o trato intestinal. As infecções causadas pelo patógeno podem ser sistêmicas e algumas vezes

acompanhadas por lesões entéricas (PORTER-JR, 1998). *Salmonella Pullorum* e *Gallinarum* são altamente virulentas e patogênicas em frangos de corte além de serem adaptadas ao seu hospedeiro. Estes sorovares causam elevada mortalidade em pintos de um dia, mas não em frangos de três semanas, mesmo causando a doença. Estes efeitos não acontecem quando estas foram testadas em camundongos, sugerindo uma especificidade ao hospedeiro (BARROW et al., 1994).

Outros sorotipos como o Typhimurium tiveram a capacidade de ocasionar a enfermidade tanto em camundongos quanto em pintos de um dia, no entanto não causaram esse resultado em frangos de três semanas. Outros sorotipos sem adaptação aos hospedeiros não ocasionaram mortalidade ou morbidade em camundongos e frangos. (BARROW et al., 1994).

A introdução a partir do intestino para o sistema retículo-endotelial é um processo de muitas etapas que abrange, pelo menos, a sobrevivência no intestino, a adesão, a invasão e a translocação para o baço (BARROW et al., 1994). Na invasão a falta de flagelos das *Salmonella Pullorum*, ou *Gallinarum*, não causa inflamação expressiva, como aquela causada por *Salmonella Typhimurium* ou *Enteritidis*. A falta de flagelos faz com que estas não sejam reconhecidas pelos receptores tipo toll 5, que exercem uma função fundamental no começo da resposta inflamatória. A salmonela invade então os macrófagos e possivelmente células dendríticas e são levadas para o baço e fígado, onde acontece a replicação (IQBAL et al., 2005; CHAPPELL et al., 2009)

O patógeno persiste mais tempo no ceco que em outras localidades do intestino. Esta preferência da salmonela no ceco se deve ao resultado de fatores não específicos ou do hospedeiro. Isto pode abranger a baixo fluxo de conteúdo através desse órgão, que possibilitaria uma maior reprodução microbiana e persistência (BARROW et al., 1988).

Salmonella Pullorum causa infecção persistente em aves de postura, em que macrófagos do baço são os principais locais de persistência. Ao chegar à maturidade sexual da ave, a quantidade de bactérias aumenta e esta se distribui para o trato reprodutivo, o que pode levar à transmissão vertical através dos ovos (WIGLEY et al., 2005).

2.7 Patologia

Existem muitas manifestações patológicas nas aves a partir do contato com a *Salmonella* spp. como, gastroenterites, peritonites, hemorragias na camada serosa, do pericárdio e peritônio com inflamação deste, ficando os órgãos contidos na cavidade abdominal, fígado, baço e intestinos recobertos por uma capa fina de fibrina, além de inflamação congestiva da mucosa intestinal. Podem ocorrer ulcerações na mucosa, nos órgãos genitais das galinhas, inflamação do oviduto e ovário contendo vitelo deformado, anguloso e deformações nas articulações (JOVER, 1968; BERCHIERI JR., 2000).

A forma aguda e superaguda ocorrem em pintos de poucos dias de idade. Elas aparecem após a eclosão, podendo evoluir de maneira rápida e ocasionar alta mortalidade na segunda semana de vida. Após esse período a mortalidade pode parar e as aves podem recuperar-se (ROCA et al., 1991).

Dependendo do sistema imune das aves e da qualidade do manejo, a mortalidade pode ser variável. Aves adultas passam a ter a pulorose na forma crônica, refletindo na postura dos ovos e no desenvolvimento lento e desigual da sua ninhada. Na forma superaguda podem acontecer alterações microscópicas como congestão vascular em vários órgãos (fígado, baço e rins). Na forma aguda e subaguda, há pontos necróticos no fígado, congestão renal e nos cecos de aves jovens há ampla necrose da mucosa e submucosa com o lúmen contendo debris celulares necrosados, misturado com fibrina e heterófilos (BERCHIERI JR., 2000).

De acordo com os relatos de ROCA et al. (1991) um plantel acometido por tifo aviário pode apresentar mortalidade de 100 % . Em lote com salmonelose pode-se notar aves com o quadro clínico da doença e aves com aspecto normal de saúde, sendo que essa doença apresenta características de septicemia e toxemia. Há congestão dos órgãos internos e extermínio das hemácias pelo sistema mononuclear fagocitário seguida por anemia, podendo ocorrer esplenomegalia e hepatomegalia nos quadros agudos. O fígado torna-se friável com coloração atípica (esverdeado) com pontos necróticos (esbranquiçado) e hemorrágicos.

Há pontos necróticos ainda no coração e no baço e este possui, pontos de hemorragia. Na pulorose pode ser notado, processo inflamatório com o desenvolvimento de nódulos em vários órgãos. O ovário pode aparecer atrofiado ou com os folículos hemorrágicos (BERCHIERI JR., 2000).

Normalmente, a salmonelose é uma das doenças que geram preocupação, pois pode ocasionar problemas para os seres humanos e animais. As principais são a pulorose, que afeta principalmente aves jovens, e o tifo aviário, que afeta principalmente aves adultas. As

salmonelas não específicas causam o paratifo aviário. As salmonelas são muito patogênicas para mamíferos e aves, causando elevada mortalidade. Seus sinais clínicos se confundem com outras bacterioses, como a colibacilose e a diferenciação é feita com o isolamento e identificação da bactéria. O controle mais uma vez envolve higiene rígida e eliminação dos focos (aves portadoras da bactéria), de forma parecida, a infecção nas galinhas poedeiras de ovos comerciais pode levar à produção de ovos contaminados e, como consequência, pôr em risco o consumidor. Neste caso, o risco de uma toxinfecção alimentar é maior em função do hábito de consumir ovos crus, o que não ocorre com a carne de frango (OLIVEIRA e SILVA, 2000).

2.8 Diagnóstico

O diagnóstico pode ser utilizado como forma de diminuir os casos de salmonelose em humanos e animais. Um diagnóstico decisivo e eficaz para pulorose e tifo aviário, assim como para outras salmoneloses, está baseado no isolamento e identificação do patógeno sendo complementado pelo histórico, sinais clínicos, lesões e dados de mortalidade (MACHADO, 2000). Para a análise clínica se faz necessário uma anamnese acompanhada dos achados clínicos e de necropsia, devendo-se realizar o diagnóstico diferencial através da investigação bacteriológica e sorológica.

Os achados das análises sorológicas precisam ser confirmados com os exames bacteriológicos. O veterinário deverá usar os achados clínicos e anatomopatológicos, discutidos anteriormente, como uma arma para direcionar de forma objetiva os exames laboratoriais, pois somente estes poderão fornecer, com maior exatidão, o diagnóstico final (BERCHIERI JR, 2000).

Para análise através do isolamento bacteriano em aves com sinais clínicos da doença ou suspeitas sorológicas, é normal a utilização de *swabs* de órgãos. Na monitoria de lotes, são mais utilizadas as coletas por *swabs* cloacais, de arrasto, amostra da cama, fezes frescas, conteúdo de comedouros e bebedouros, e em poedeiras comerciais e reprodutoras, ovos e embriões também podem ser cultivados (BERCHIERI JR. e BARROW, 1995).

A opção do procedimento laboratorial acertado é um pré-requisito eficaz para o isolamento de qualquer patógeno, sendo que para o isolamento de *Salmonella* spp. existem vários fatores como entraves financeiros, carência de pesquisadores especializados e de aparelhos que podem afetar esta escolha (ALBUQUERQUE et al., 2000).

Entre os exames mais empregados destacam-se os testes sorológicos indiretos como o Ensaio Imunoenzimático (ELISA) e Hemoaglutinação rápida em placas e os cultivos bacteriológicos com o emprego de caldo tetracionato; ágar verde brilhante; ágar MacConkey; ágar *Salmonella-Shigella*, entre outros. O Ensaio imunoenzimático é fundamentado na detecção de IgG e oferece certos benefícios quando comparado aos testes sorológicos tradicionais, além de ser mais sensível que o teste de soroaglutinação em placa (NICHOLAS et al., 1991).

Segundo OLIVEIRA (1984), para o diagnóstico de portadores da pulrose, usa-se o teste de Hemoaglutinação que é realizado no próprio aviário, usando antígeno de laboratório idôneo, acompanhado por controles positivos e negativos na hora da prova. Para este teste, as aves deverão estar em jejum por algumas horas, pois esses animais podem estar com lipemia devido à alimentação ofertada caso esta seja rica em triglicérides interferindo assim nos testes sorológicos. Ressalta-se que o soro e o antígeno devem estar na mesma temperatura e a leitura do resultado é realizada um minuto após se homogeneizar uma gota de antígeno e uma gota de sangue coletado da ave. As reações positivas são as que apresentar aglutinação em toda a área da superfície da gota na placa de vidro de Huddleson,

Para isolamentos microbiológicos os órgãos de predileção para processamento microbiológico para isolamento de *Salmonella* spp. em meios de cultivo são: baço, fígado, coração, ovário, conteúdo intestinal, saco da gema, medula óssea, pulmão e locais lesionados, como artrite e aerossaculite (BERCHIERI JR. 2000). De acordo com ROCA et al. (1991), na forma aguda septicêmica dos pintainhos, a *Salmonella Pullorum* pode ser isolada a partir de qualquer órgão parenquimatoso.

2.8.1 Sorológico

O teste de soroaglutinação rápida (SAR), que é indicado para a detecção de anticorpos contra *Salmonella* Pulorum e Gallinarum não detecta anticorpos contra as salmonelas paratífoides. Ainda para *S. Pulorum*, a sorologia não é uma metodologia eficiente para a análise da doença, pois quando a contaminação ocorre precocemente, anticorpos circulantes não surgem até 20 a 40 dias após a infecção e, ainda em um período de 100 dias pós-infecção, pode-se não notar a produção de anticorpos. Portanto, para fins de diagnóstico preciso, deve-se efetuar o isolamento da bactéria, a sua identificação e classificação em espécies (ITO et al, 2004).

2.8.2 Cultivos bacteriológicos na microbiologia convencional para o isolamento de *Salmonella* spp.

A microbiologia consagrada no isolamento e identificação bacteriológica de *Salmonella* spp. é vastamente utilizada e estabelecida em legislações particulares. E compostas nas etapas de pré-enriquecimento, enriquecimento seletivo, plaqueamento, seleção, identificação bioquímica e prova de soro-aglutinação (BRASIL, 1995a; 1995b; 2003). Entretanto, essas avaliações na maioria das vezes exigem um tempo mínimo de cinco dias, podendo chegar até sete dias, se forem feitas as provas bioquímicas e sorológicas (STONE et al., 1994).

A técnica é demorada e laboriosa, pois são necessários diferentes reagentes e vidrarias, especialmente quando é feito o procedimento de uma grande quantidade de amostras. Deste modo, métodos de diagnósticos mais rápidos são indispensáveis para as indústrias de alimentos, especialmente quando se trata de mercadorias perecíveis (VON RÜCKERT, 2006).

A fase antes do enriquecimento comumente é feita em Água Peptonada Tamponada. Do material analisado, 25 gramas são acondicionados em estufa bacteriológica à 37°C (BAGER e PETERSEN, 1991; CHERRINGTON e INT VELT, 1993). Determinados autores não realizam o pré-enriquecimento (CALDERON e FURLANETTO, 1991), no entanto utilizam uma medida mínima de amostra de 10 gramas, a qual é colocada diretamente no enriquecimento seletivo, sempre conservando a relação de volume para o caldo, 1:10 ou 1:100.

Esta primeira fase é usada para deixar que as células bacterianas, quando danificadas, possam restaurar e reproduzir. Desta forma, o número de *Salmonella* spp. que serão inoculadas nos meios de enriquecimento seletivo será mais facilmente alcançado. Logo, a expectativa de que *Salmonella* spp. continuem duradouras após esta segundo passo será maior (NIELSEN e BAGGESEN, 1997). Em alimentos que não passaram tratamento térmico, analisa-se que as células de *Salmonella* spp. não se mostram lesadas e não seria necessário o uso de pré-enriquecimento (FAGERBERG e AVENS, 1976). Ao contrário, o pré-enriquecimento das amostras de fezes pode consentir uma melhor detecção de *Salmonella* spp., a exemplo do que ocorre com outros materiais como amostras de ambiente e de ração, nos quais as células bacterianas podem estar prejudicadas devido à falta de umidade e efeito potencial de desinfetantes (NIELSEN e BAGGESEN, 1997; KIM et al, 1999).

O tempo de acondicionamento desta etapa, na maioria das pesquisas, fica em torno de 20-24 h, mas são referidos também períodos com menos tempo, de 16 h (BAGER e PETERSEN, 1991). A fase do enriquecimento seletivo permite o crescimento de preferência de bactérias do gênero *Salmonella* spp. e tem sua ação comprometida pelo meio utilizado, a quantidade inóculo procedente do pré-enriquecimento, o tempo e a temperatura na estufa (FAGERBERG e AVENS, 1976; BAGER e PETERSEN, 1991; CALDERON e FURLANETTO, 1991), bem como pela matéria orgânica e microbiota presentes (SHARMA e PARKER, 1969; JUNE et al, 1995).

Os meios de enriquecimento seletivo dificultam o crescimento de outras bactérias que não sejam *Salmonella* spp., na maioria das vezes através de compostos tóxicos, do pH e da pressão osmótica. Tais elementos podem estar evidentes, de forma separada ou ajustada aos meios (BAGER e PETERSEN, 1991).

O melhor meio de cultivo, conseqüentemente, não deve inibir a *Salmonella* spp., possibilitando que esta se desenvolva até condições detectáveis, e de maneira satisfatória e seletiva para impedir um grande desenvolvimento da microbiota concorrente (BECKERS et al., 1987), que no meio sólido pode inibir o isolamento do patógeno.

A competitividade de determinadas espécies da família Enterobacteriaceae, estabelece um problema tanto para o isolamento como na identificação de *Salmonella* spp. Assim, o uso de uma fase de desenvolvimento seletivo torna-se imprescindível, até mesmo para os mais atuais sistemas de detecção de *Salmonella* spp. (ARROYO e ARROYO, 1995). Um dos meios mais utilizados tem sido o caldo Selenito, o Tetracionato, e o caldo Rappaport-Vassiliadis (BAGER e PETERSEN, 1991).

BELLO-PÉREZ (1993) ressalta o reconhecimento dos meios de enriquecimento seletivo e, da mesma maneira como VASSILIADIS et al.(1985) e BAGER e PETERSEN (1991), aconselham o uso de pelo menos dois meios para enriquecimento seletivo, pois de acordo com seus estudos, os caldos não recuperam com igualdade os sorotipos de *Salmonella* spp.

Na fase do plaqueamento, a eficiência da etapa de enriquecimento seletivo permite uma maior recuperação de *Salmonella* spp. nos meios sólidos seletivos, estabelecendo o terceiro passo de identificação destas bactérias. Quanto mais for a seletividade adquirida na fase de enriquecimento seletivo, menor será o crescimento de microorganismos concorrentes no ágar, e melhor serão as condições para o isolamento de *Salmonella* spp. (SHERROD et al., 1995).

Os meios de plaqueamento precisam ainda possuir um princípio confiável que possibilite a caracterização das colônias de *Salmonella* spp. (RAPPOLD e BOLDERDIJK, 1979). MILLER et al. (1991) aconselham o uso de mais de um meio seletivo, pois alguns sorovares de *Salmonella* spp. conseguem ter sensibilidade ao inibidor presente em determinado meio. O uso de um meio suplementar poderia possibilitar o isolamento do sorotipo que não foi detectado através de outro meio. Esta associação diminuiria, assim, os falsos-negativos.

Os meios seletivos são geralmente um meio nutritivo acrescentado de corantes, antibióticos, sais biliares e/ou outros inibidores químicos do desenvolvimento de micro-organismos não desejáveis, e um sistema identificador que, através da cor das colônias, sugira quais possivelmente sejam *Salmonella* spp. (FAGERBERG e AVENS, 1976). Na maioria das vezes a distinção das colônias de *Salmonella* spp. das outras colônias acontece pela presença de ácido sulfídrico, ou a utilização de açúcares como lactose (SHERROD et al., 1995; FAGERBERG e AVENS, 1976).

O sistema identificador destes meios, como o Verde Brilhante, usa a habilidade dos micro-organismos de utilizarem ou não a lactose e a sacarose. A deterioração do açúcar resulta na acidificação do meio, sendo considerada através da mudança do indicador vermelho de fenol para amarelo. Os micro-organismos que não utilizam esses açúcares irão alcalinizar o meio através dos resultados finais das reações químicas das peptonas, com o aparecimento de uma cor vermelho intensa. Como *Salmonella* spp. não utiliza tais açúcares, suas colônias terão uma coloração rosa forte, com um halo vermelho intenso no ágar, se mostrando ainda como colônias translúcidas (FAGERBERG e AVENS, 1976).

Na quarta fase, nas colônias sugestivas para *Salmonella* spp. que foram selecionadas nos meios sólidos são feitas provas de triagem bioquímica. Testes como ágar Ferro Lisina (LIA) e ágar Ferro Tríplice Açúcar (TSI) são usados como triagem inicial, a partir dos quais fazem-se então uma série de provas bioquímicas adicionais, entre estas: citrato, fermentação de dulcitol, lactose e sacarose, crescimento em KCN, malonato, vermelho de metila, Voges-Proskauer, SIM, uréase, entre outros testes (HELRICH, 1990), ou ainda fenilalanina desaminase, β -galactosidase (ONPG), fermentação de adonitol, rafinose e salicina (KELLY et al., 1985). Se estes ainda forem indicativos para *Salmonella* spp., então é realizado a os testes confirmatórios caracterizando a quinta fase, através da sorologia (SILVA, 1977), necessária para complementar os resultados obtidos pelos testes bioquímicos, pois

tanto estes como o teste sorológico não são específicos para *Salmonella* spp. (BANWART, 1989).

A sorologia é feita através da técnica de aglutinação utilizando soros polivalentes que geram a reação de aglutinação pela apresentação de anticorpos contra antígenos O, por exemplo, soro polivalente somático. Após estas fases que, compõem as técnicas para o isolamento de *Salmonella* spp. pelos métodos convencionais, através de métodos de cultura convencionais, obtém-se então o diagnóstico final (NIELSEN e BAGGESEN, 1997). Entretanto, a prática da sorotipagem confirma como resultado um maior valor a nível epidemiológico. Desta forma, através da nomenclatura de Kauffmann-White a *Salmonella* spp. é identificada conforme a presença dos antígenos somáticos, capsulares e flagelares (CAMPOS, 1999).

3. Prevenção e controle

As normas de biosseguridade e manejo sanitário das aves são relevantes nos programas para diminuição de salmonelas no ambiente. De acordo com GAST et al. (1997), um dos artifícios empregados é a limpeza e desinfecção do galpão, com a utilização de desinfetantes químicos. Porém, nem todos são eficientes e dependem da quantidade de material orgânico existente no galpão (BERCHIERI e BARROW, 1996). É importante também realizar o controle de roedores nos galpões a fim de evitar transmissão do patógeno às aves (HENZLER e OPITZ, 1992).

As normas de prevenção e controle consideram muitas medidas, dentre elas: isolamento das aves doentes, domínio do trânsito dentro do plantel, monitoramento e registro das aves, ensino continuado dos manejadores, higienização dos galpões, quarentena, tratamento e vacinação das aves, aplicadas ao mesmo tempo (GAST et al., 1997), objetivando evitar a transmissão vertical e horizontal da bactéria (BERCHIERI JR, 2000). Segundo MCILROY et al. (1989), o risco de transmissão vertical pode ser minimizado pelas práticas corretas de manejo e a monitoria de lotes de matrizes testados por métodos bacteriológicos e sorológicos, resultando em aves livres de *Salmonella* spp. pela aquisição de linhagens de aves de produção mais resistentes à infecção por *Salmonella* spp. (BUMSTEAD, 2000) por medidas como a eliminação de aves portadoras da bactéria; por tratamento dos ovos ainda no galpão (BERCHIERI JR, 2000).

Metodologias específicas empregadas para o controle de *Salmonella* spp. em rações de aves, abrangem a peletização e aplicação de ácidos orgânicos (SILVA, 2005). De acordo com GAMA (2001), como a peletização da ração é atingida em temperatura superior a 60° C, o processo pode eliminar a bactéria da ração, desde que não ocorra recontaminação pelo manuseio e por ratos ou insetos.

IBA e BERCHIERI (1995) examinaram que a combinação de ácido fórmico com propiônico na ração de aves foi efetiva na disseminação de *Salmonella* Typhimurium em ração infectada de maneira artificial. O uso sem controle de antibióticos e o acréscimo de agentes de crescimento em rações, colaboraram para a resistência de *Salmonella* spp. (BERCHIERI JR e BARROW, 1996). Além disso, após a remoção do agente terapêutico, pode acontecer um período no qual as aves possam se tornar vulneráveis à infecção por *Salmonella* spp., quando a microbiota normal, por si própria inibitória para *Salmonella* spp., também é afetada pelo uso do antibiótico (BARROW, 1999).

Outra medida de controle é a eliminação competitiva, que se é realizada ao inocular via oral o conteúdo cecal de aves adultas saudáveis em pintinhos recém-nascidos, acelerando o processo de acomodação da microbiota desejável do intestino (NURMI e RANTALA, 1973). Dessa forma, a instalação de outros micro-organismos patogênicos na mucosa intestinal fica mais difícil, podendo conter a infecção por salmonelas em aves com microbiota intestinal imatura ou debilitada por antibioticoterapia. Outra medida preventiva a cerca da *Salmonella* spp. é a vacinação de aves suscetíveis (GAST et al., 1997).

Vários estudos aconteceram objetivando a análise da eficiência do uso de vacinas vivas (BARROW et al., 1991; HASSAN e CURTISS III. 1994) e inativadas (TIMMS et al.,1990; GAST et al.,1993; NAKAMURA et al.,1994; MIYAMOTO et al.,1999; WOODWARD et al., 2002). Com o uso destas medidas preventivas, que podem ser utilizadas de maneira certa e efetiva como parte do programa de vigilância da contaminação em aves e a infecção dos ovos por *Salmonella* spp. (GAST et al.,1992) evita-se muitos surtos de salmonelose.

De acordo com o Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA), destaca que a salmonelose é uma doença de monitoramento e precaução oficial dentro da Portaria Ministerial nº 193/1994 que preconiza que os núcleos e estabelecimentos avícolas estejam livres para *Salmonella* Gallinarum e Pullorum e livres ou controlados para, *Salmonella* Enteritidis e Typhimurium (BRASIL, 1995).

O MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento), em 1995 reforçou a legislação de controle de *Salmonella* Enteritidis nas granjas avícolas, enfatizando o PNSA (Programa Nacional de Sanidade Avícola) (BRASIL, 1995), possuindo também uma série de regulamentações bem específicas com relação à *Salmonella* spp. O MAPA define GFQ como um tipo de criação com aves destinadas ao consumo dos próprios criadores, comercialização, combate (nos casos de briga de galo) ou para práticas de rituais religiosos.

Até 2007, 2610 sorovares de *Salmonella* spp. foram identificados (GUIBOURDENCHE et al., 2010). A maior parte dos sorovares possui vários tipos de hospedeiros e afetam diferentes espécies de animais. Existem sorovares que apresentam caráter de especificidade e, dentre os sorovares adaptados às aves, estão *Salmonella enterica* sorovar Gallinarum e *Salmonella enterica* sorovar Pullorum, que causam o tifo aviário e pulorose, respectivamente. Estas doenças são de grande importância econômica em função dos altos custos com programas de controle, queda de postura e aumento da mortalidade (SHIVAPRASAD, 2000).

A avicultura brasileira é, em sua totalidade, industrial, muito diferente das criações de fundo de quintal, e essas diferenças são perceptíveis nas medidas existentes de prevenção e controle acerca desses tipos de criações. Os cuidados sanitários na indústria avícola são efetivados por meio de rígidas medidas de biossegurança, que preconizam acompanhamento constante das aves. Contudo, qualquer controle é feito nas criações de galinhas de fundo de quintal. Essas aves podem ser fontes de contaminação de salmonelas, entre outras doenças para outras aves. Observa-se que esses agentes se multiplicam na natureza contaminando, ampla variedade de aves domésticas e de vida livre, especialmente na ausência de manifestação clínica, e disseminam-se na população de aves, por mecanismos de transmissão horizontal e vertical (JÚNIOR, 1997).

4. Ovos

De acordo com ROMANOFF e ROMANOFF (1949), citado por NASCIMENTO e SALLE (2003), os ovos têm sido reconhecidos como importante alimento desde que os homens primitivos os coletavam dos ninhos das aves silvestres. Comparando com o ovo de galinha, nenhum outro alimento de origem animal é consumido por tantos e tão diversos povos ao redor do mundo, e nenhum é servido em tal variedade e formas. Sua popularidade

justifica-se não somente por sua fácil obtenção, eficiência econômica e múltiplos usos em culinária, mas também porque é incomparável em sua excelência nutritiva.

De acordo com a portaria N° 01, de 21 de fevereiro de 1990, relativo às Normas Gerais de Inspeção de Ovos e de Derivados, compreende-se pela denominação “ovo”, como o ovo de galinha em casca, sendo os demais ovos acompanhados da indicação da espécie de que procede (BRASIL, 1990). No Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal - RIISPOA há menção de que os ovos designados à indústria devem oferecer a casca sem sujeira após a lavagem e conteúdo apto para o consumo. Para conseguir a investigação da qualidade do ovo se faz necessário o exame de ovoscopia (BRASIL, 1997).

Na alimentação humana, o ovo de galinha é um alimento muito usado. Seu peso é de aproximadamente 50 gramas. A clara possui a maior quantidade de proteína e vitaminas do complexo B e a gema possui a parcela lipídica e as vitaminas lipossolúveis (ORNELLAS, 2001).

Os ovos embalados de maneira errada ou expostos a correntes de vento e a agentes contaminantes, guardados em temperatura alta e baixa umidade, têm alterações bioquímicas do albúmen mais rápidas e estão mais propensos à infecção por agentes patogênicos, diminuindo a sua validade comercial (MOURA et al., 2008).

A infecção pode ocorrer após a postura, quando o ovo entra em contato com o ambiente, acontecendo a compressão do conteúdo interno com o deslocamento da membrana interna formando a câmara de ar. Neste momento, se o ovo estiver em um ambiente inapropriado, micro-organismos podem ser inserir para o interior do ovo a partir dos poros da casca (MEIJERHOF, 1998).

O desaparecimento da cutícula protetora também facilita a entrada de micro-organismos através dos poros das cascas (EVANGELISTA, 2005). Isso pode ocorrer por causa da lavagem do ovo e, se a temperatura da água for menor que a temperatura do ovo, bactérias podem ser absorvidas para o seu interior. Outra forma de destruição da cutícula é devido ao desenvolvimento de fungos ou enterobactérias na casca, promovendo assim a introdução de outros micro-organismos (APHA, 2001; BEZERRA et al., 1995; EVANGELISTA, 2005).

A presença de rachaduras na casca, mesmo que microscópicas, também favorecem a penetração de micro-organismos. (TODD, 1996) A contaminação externa da casca do ovo é importante para determinação de sua vida-de-prateleira e para a segurança dos consumidores (SCHOENI, J. L et al., 1995). Na tentativa de reduzir problemas decorrentes da

contaminação por micro-organismos patogênicos e/ou deteriorantes, os ovos são submetidos a processos como a lavagem da casca e a 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).

O tempo, a umidade e a temperatura de armazenagem são fatores fundamentais para que as bactérias, principalmente a *Salmonella* spp., possam migrar para o interior do ovo (JAY, 2000 ;SILVA, 1995). Altos níveis de umidade favorecem a multiplicação de micro-organismos e promovem a dilatação dos poros da casca. Durante o armazenamento, ocorrem trocas gasosas entre o ovo e o ambiente, com isso a clara perde água e dióxido de carbono alterando o seu pH de 7,6 até 9,7 .Tal fato promove a descentralização da gema, que pode entrar em contato direto com a casca, facilitando a penetração de micro-organismos (JAY, 2000).

As mudanças físicas e químicas na viscosidade da clara e na permeabilidade da membrana vitelínica, exacerbadas pelo envelhecimento do ovo, permitem a migração das bactérias (GAST e HOLT, 2001).

Um dos alimentos mais completos para a alimentação humana é o ovo, pois apresenta na sua composição uma proteína de excelente valor biológico, que reúne a maior parte dos aminoácidos essenciais, vitaminas, minerais e ácidos graxos (AUSTIC e NESHEIM, 1990; TERRA, 1999).

Para que todo esse potencial nutritivo seja utilizado na alimentação humana, os ovos precisam ser conservados durante o período de comercialização, uma vez que podem passar semanas entre o momento da postura, sua compra e o preparo. Quanto maior for esse período, pior será a qualidade interna dos ovos, já que, após a postura, eles perdem qualidade de maneira continuada (MORENG e AVENS, 1990).

A diminuição da qualidade do conteúdo interno dos ovos está ligada de maneira especial à perda de água e de dióxido de carbono durante o período de estocagem, e é proporcional ao aumento da temperatura do ambiente (AUSTIC e NESHEIM, 1990; CRUZ e MOTA, 1996). A avaliação da altura do albume, quando o ovo é distribuído em uma superfície plana, permite definir a propriedade deste, pois à medida que ele envelhece a proporção de albumina líquida aumenta em detrimento da densa.

O aumento de gás carbônico resulta em uma modificação no paladar do ovo em efeito do acréscimo da alcalinidade, além das várias reações químicas que acontecem no seu

interior, abrangendo o ácido carbônico (H₂CO₃) (MORENG e AVENS, 1990). Assim, ovos frescos e bons para o consumo oferecem pH neutro e clara límpida, transparente, consistente, densa e alta, com pouca porção mais fluida (MURAKAMI et al., 1994).

A refrigeração dos pontos de comercialização é um detalhe importante que ajuda a conservação do conteúdo interno dos ovos (SELEIM e EL-PRINCE, 2000; CARVALHO et al., 2003). Entretanto, 92% dos ovos são vendidos *in natura* e todo o processo de venda ocorre sem refrigeração.

De acordo com RODRIGUES (1984), sobre a venda de ovos em Campinas, SP, mostrou-se que em 10% dos supermercados, os ovos ficavam por mais de 15 dias em exposição antes de serem comercializados. Ressaltando que a validade de um ovo, em temperatura ambiente, sem estragar a sua qualidade interna, varia de quatro (AHN et al., 1981) a quinze dias (OLIVEIRA, 2000) após a data de postura.

Segundo PERESI (2004), as doenças ocasionadas por bactérias e transmitidas através de alimentos são prevalentes no Brasil e no mundo, podendo ocorrer sob a forma de surtos ou individualmente. FRANCO e LANGRAF (2008) descreveram que estes surtos geram preocupação para indústrias alimentícias e para órgãos de Saúde Pública, onde apenas pequena percentagem dos casos chega as instituições que pesquisam essas doenças, o que prejudica a qualidade da informação epidemiológica (PERESI et al., 2004). Os ovos têm sido apontados como veiculadores de diversas bactérias, especialmente do gênero *Samonella*, ocasionando surtos de infecções alimentares (ANDRADE et al., 2004).

Na resolução da diretoria Colegiada – RDC n° 02/01/2001, da agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA, considera-se a necessidade de constante aperfeiçoamento das ações de controle sanitário na área de alimentos, visando a proteção à saúde da população e a regulamentação dos padrões microbiológicos para alimentos (BRASIL, 2001).

Os critérios e modelos microbiológicos para alimentos são imprescindíveis para analisar as Boas Práticas de Produção- BPP de alimentos; a aplicação do Sistema de Análise e Perigos e Pontos Críticos de Controle - APPCC e a qualidade microbiológica dos produtos alimentícios, incluindo o esclarecimento de agentes etiológicos causadores de doenças transmitidos por alimentos (BRASIL, 2001).

De acordo com SILVA JR. (2002), um critério microbiológico tem como características possuir uma definição do micro-organismo de importância; dos métodos analíticos imprescindíveis para a sua detecção e contagem; de um plano de amostragem; do tamanho das unidades de amostras e dos estabelecimentos onde foi feita a coleta das amostras.

Em 25 gramas de ovo cru ou em conserva e qualquer outra forma de conservação não é permitida a presença de bactérias do gênero *Salmonella* spp. (BRASIL, 2001).

Uma vez que a penetração através das estruturas da casca aconteça, os micro-organismos acham, na clara, outros empecilhos à sua sobrevivência e multiplicação. A lisozima é uma proteína que possui a capacidade de extinguir a parede bacteriana e tem ação, principalmente, contra bactérias Gram-positivas. A avidina forma um complexo com a Biotina, tornando indisponível e atrapalhando a propagação, especialmente, das bactérias Gram-negativas. A proteína ovo-inibidor age inibindo proteases de fungos e de bactérias. A ovo-flavoproteína é capaz de ligar Riboflavina (vitamina B2), tornando-a indisponível para os micro-organismos e apresentando, por este motivo, ação antimicrobiana. A ovotransferrina, pela forte tendência de ligação ao ferro, indisponibiliza este mineral para os micro-organismos (SGARBIERI, 1996; JAY, 2000).

De maneira específica, em relação ao sorotipo Enteritidis, ovotransferrina é a principal substância inibidora presente no ovo (CHEN, H. et al., 2001; COGAN et al., 2001). O pH, que pode chegar a 9,0, faz com que a clara não represente ambiente favorável para a maioria dos micro-organismos (SGARBIERI, 1996; JAY, 2000). Nesta faixa de pH., há uma tendência mais forte de ligação do ferro a ovotransferrina e a remoção deste mineral pela enteroquelina é menos provável de acontecer (COGAN et al., 2001).

As características da clara inibem a proliferação de *S. Enteritidis* quando a transmissão acontece pela via horizontal. Quando o ferro chega à clara, vindo da gema, ou quando a bactéria penetra na gema, pela fraqueza da membrana vitelina, a multiplicação ocorre de maneira rápida (HARA-KUDO et al., 2001).

Algumas mudanças que podem ocorrer no ovo, durante o armazenamento, estão relacionadas às trocas gasosas entre o alimento e o ambiente, realizadas através dos poros da casca. Desta forma, a clara perde água e CO₂, o que resulta em aumento do seu pH desde cerca de 7,6 até 9,7, em velocidade podendo variar de acordo com a temperatura. Quando isso acontece, ocorre ruptura da estrutura de gel da clara e a membrana vitelina perde sua resistência, o que leva a gema a um estado fluido e a uma posição descentralizada, podendo a mesma entrar mais facilmente em contato com os demais conteúdos do ovo (FENNEMA, 1996; JAY, 2000).

Os ovos com cascas finas e rachadas oferecem um maior crescimento de *S. Enteritidis* na clara contaminada de maneira artificial, talvez pela rapidez das alterações na composição da clara; além disso, mudanças na membrana vitelina e na composição do ovo,

como um todo, também pode afetar diretamente a capacidade da clara em facilitar ou inibir o desenvolvimento de *S. Enteritidis* (HARA-KUDO et al., 2001). Apesar do pH da clara aumentar a taxa de ligação do ferro à ovotransferrina, a sobrevivência de *S. Enteritidis* na clara ocorre e poderia ser esclarecida pela maior eficiência da enteroquelina em quelar ferro em relação à ovotransferrina, ou pela morte de micro-organismos presentes na clara, que forneceriam ferro à *S. Enteritidis* (COGAN et al., 2001).

Apesar da clara não ser um local adequado para a reprodução de *Salmonella* spp., o patógeno pode não só continuar a viver neste espaço, como, também, multiplicar-se (HARA-KUDO et al., 2001). Como a clara, a gema é um local para a infecção de ovos por *Salmonella* spp., pelo fato de seu conteúdo possuir muitos nutrientes, mesmo quando o local de deposição da bactéria é externo à gema, a reprodução pode começar rapidamente (GAST e HOLT, 2001a). A gema apresenta um local mais apropriado para a bactéria do que a clara, devido ao pH e ao conteúdo de lipídeos (CHANTARAPANONT et al., 2000). A gema fresca apresenta valores de pH em torno de 6,0, variando muito pouco, mesmo em condições de armazenamento prolongado (FENNEMA, 1996; JAY, 2000).

As mudanças das propriedades químicas e físicas na permeabilidade da membrana do vitelo, na viscosidade do conteúdo do ovo são acentuadas pelo envelhecimento do ovo, e permitem a migração da bactéria até a gema. A penetração do micro-organismo na gema através da membrana vitelina, em ovos contaminados experimentalmente, é menor em 15°C, mas ocorre após 24 horas a 25°C. Uma vez na gema, *Salmonella* spp. pode multiplicar entre temperaturas de 10 a 25°C, sendo que o número de bactérias aumenta rapidamente a 25°C. Além disso, *Salmonella* spp. pode estar naturalmente presente na gema, devido à transmissão vertical e, neste caso, a multiplicação é rápida em 24 horas a 25°C.

Embora a multiplicação na gema pareça ser bem menor quando a transmissão é pela via do ovo, esta ocorre em níveis de risco ao consumidor (GAST e HOLT, 2001a), o que demonstra a importância das rotas horizontal e vertical na infecção de ovos por *S. Enteritidis* (COX et al., 2000). O nível de *S. Enteritidis* no ovo é baixo (entre 10 e 20 células por ovo), mas este número pode chegar a 10^4 - 10^8 UFC por ovo após 24 h se mantidos a 25°C. Uma das medidas práticas e efetivas para a redução dos riscos à saúde pública pode ser o controle do crescimento de *S. Enteritidis* durante o armazenamento (HARA-KUDO et al., 2001; GAST; HOLT, 2001b).

Além disso, sendo baixa a temperatura no interior do ovo, a probabilidade da infiltração do micro-organismo na gema, onde o mesmo poderia se reproduzir mais

rapidamente, é reduzida. A dificuldade de penetração de *Salmonella* spp. até a gema, através da clara, devido à temperatura de armazenamento, fornece uma margem de segurança até que a gema seja resfriada a 7°C (GAST e HOLT, 2001b).

Uma vez estabelecidas situações que favoreçam a propagação da bactéria no ovo, poderá haver sobrevivência ao processamento térmico impróprio (CHANTARAPANONT et al., 2000), o que acrescenta a necessidade de fornecer informações ao consumidor. Neste contexto, as ações de controle dos riscos possíveis oferecidos pelo consumo de ovos infectados com *Salmonella* spp. visam à cadeia produtiva de forma total e chegam, inclusive, ao consumidor. Assim, aparecem como regras eficientes a pasteurização do ovo (na casca), o congelamento rápido, o armazenamento sob-refrigeração e em atmosfera modificada (com dióxido de carbono) e medidas educativas e informativas direcionadas ao consumidor, entre outras (TECHNOLOGIES, 2000).

O comportamento de *Salmonella* spp. em alimentos *in natura* ou preparados, está condicionado aos diversos parâmetros intrínsecos e extrínsecos a qual a bactéria é exposta ao contaminar o alimento. Colabora, também, para a atividade da bactéria, a presença de outros micro-organismos, os quais podem manter relações de sinergismo ou antagonismo com *Salmonella* spp. (JAY, 2000).

A refrigeração parece proteger a bactéria contra os efeitos do acidulante, devido a alterações da desnaturação proteica (SKANDAMIS e NYCHAS, 2000), o controle de *Salmonella* spp. nos ovos *in natura*, a fim de prevenir que a mesma atinja números de risco, ganha uma importância ainda maior para a saúde pública.

5. Galinhas de fundo de quintal e salmoneloses

Nas residências, as galinhas caipiras são criadas com o a finalidade de servir para o consumo e/ou comercialização pelos criadores, sendo inexiste as instalações adequadas, bem como, a adoção de técnicas de manejo que sejam eficazes quanto aos aspectos sanitários (GALVÃO JÚNIOR; BENTO; SOUZA, 2009). De acordo com SAGRILO et al. (2003), a problematização sanitária em criações domésticas de galinhas representam um entrave ao sucesso da atividade, além de consistirem em uma possível fonte para disseminação de doenças, em função da coexistência das aves com outros animais e seres humanos.

GUIMARÃES et al. (2006) em seu trabalho o teve como objetivo pesquisar a prevalência de salmonelas em 300 galinhas (*Gallus gallus*) adultas criadas em propriedades

não tecnicadas no Distrito Federal, bem como tipificá-las e realizar antibiograma para ver a sensibilidade dos micro-organismos e observou em seus resultados que, entre todas as amostras de *swabs* cloacais analisadas, nenhuma foi positiva para o gênero *Salmonella* spp. Este resultado permite demonstrar, com grau de confiança de 95%, que a salmonelose está ausente das criações de aves do Distrito Federal, considerando um limiar de prevalência detectável de 1,5%. Podemos então considerar que a salmonelose pode ou não estar presente ou circula neste tipo de criação com prevalência muito baixa. Em ambos os casos, esta situação epidemiológica deve estar associada à ausência da bactéria no ambiente onde as aves amostradas vivem ou à maior resistência dessas aves à infecção por salmonelas.

A pesquisa de MAIA et al. (2011) teve como objetivo verificar a presença de animais reagentes a *Salmonella* Gallinarum e Pullorum nas populações de aves de quintal em propriedades rurais próximas a matrizeiros localizados no município de Feira de Santana -BA, e constataram que, das 489 amostras de soro sanguíneo testadas, 26 (5,32%) apresentaram reação sorológica positiva para SG e SP, sendo 16 (36,36%) propriedades afetadas e as três regiões onde foram efetuadas as coletas apresentaram amostras positivas. Isso mostra a importância do aprimoramento dos programas sanitários, uma vez que a prevalência da *Salmonella* em criações de subsistência aumenta o risco de introdução desses agentes na avicultura industrial.

Como medidas preventivas nos plantéis de multiplicação genética e de avicultura comercial de enfermidades que possam representar impacto econômico e/ou de saúde pública, as leis acerca da Defesa Sanitária Animal devem observar um plano de controle e monitoramento sanitário para aves de fundo de quintal. Além disto, deve realizar um eficaz trabalho de educação sanitária. O governo, empresas e instituições devem oferecer e estimular a instituições fiscalizadoras de galinhas de fundo de quintal e promover junto aos criadores, estruturas para melhorar as práticas de manejo dessas aves (MAIA et al., 2011).

NÁDIA et al. (2009) pesquisaram a presença de anticorpos anti *Salmonella* spp., em frangos de produção e de fundo de quintal e, para tanto, foi seguida a seguinte metodologia: foram coletados, de forma aleatória, sangue de 50 frangos de granjas e 40 frangos de “fundo de quintal” da região Descalvado-SP. Foi utilizada uma gota de soro sanguíneo e adicionado o antígeno para *Salmonella* spp. O título final do soro foi expresso pela recíproca da maior diluição deste, capaz de inibir completamente a hemaglutinação. Nenhuma das amostras apresentou resultado positivo na prova de SAR, independente do

antígeno utilizado. Na avaliação de anticorpos anti-VDN, neste mesmo grupo de animais, 54% (27/50) apresentaram uma soro reatividade (Título de Anticorpos \geq 16) e nas aves do grupo “fundo de quintal”, 7,5% (03/40) apresentaram soro reatividade (Título de Anticorpos \geq 8). Os autores concluem que apesar da pequena amostragem de aves de produção tecnificada, não existem indícios da circulação de *Salmonella* spp. No grupo de aves de “fundo de quintal”. Necessita-se de um aumento significativo na amostragem, com a intenção de uma melhor avaliação da circulação de *Salmonella* spp e do papel verdadeiro desses grupos de aves na disseminação e perpetuação deste agente no plantel avícola.

De acordo com as observações de LEOTTA et al. (2010), foi possível verificar que as GFQ criadas confinadas apresentam três vezes e meia chances a mais de ter positividade para *Salmonella* spp. Esses pesquisadores analisaram os fatores de riscos e prevalência de *Salmonella* spp. em GFQ no Paraguai e apoiaram os seus resultados pela observação de que, em quase todas as fazendas foi verificada a presença de invasão de aves selvagens nos quintais. Os patógenos de aves selvagens podem criar riscos de doenças para aves não confinadas, bem como potenciais perdas econômicas para os criadores. As GFQ possuem vantagens e desvantagens com relação a sua saúde das aves de produção industrial. As aves não são vacinadas, com exceção das matrizes, e isto tem como objetivo aumentar os anticorpos maternos passados para pintos. Isto faz com que GFQ sejam mais susceptíveis a várias doenças infecciosas. Aves comerciais são mantidas em grupos de mesma idade, enquanto as GFQ são geralmente em grupos de várias idades, com pintos susceptíveis em contato com adultos, que são potenciais reservatórios de doenças.

LEOTTA et al. (2010), realizaram estudos em GFQ na cidade de San Lorenzo. Este foi o primeiro estudo estruturado com abordagem epidemiológica, realizado, para estimar a contaminação por *Salmonella* spp. nas GFQ no Paraguai durante o período março - abril 2009. A prevalência observada de *Salmonella* spp. neste estudo (3,5%) foi semelhante ao relatado por outros autores em outros países. A conclusão da pesquisa, no entanto, mostrou que grupos de mesma faixa etária eram mais propensos a ter positividade para *Salmonella* spp., em comparação com os grupos de idades diferentes em análise univariada ($p= 0,041$). Este fenômeno é interessante e necessita mais investigações.

6. JUSTIFICATIVA

Devido o manejo sanitário deficitário, as criações de galinhas de fundo de quintal, seja no ambiente urbano ou na zona rural, podem representar um foco potencial de *Salmonella* spp. Além de estar associada aos riscos que os consumidores dos produtos e subprodutos desse tipo de criação podem estar submetidos, uma vez que as bactérias do gênero *Salmonella* spp. podem estar presentes no ovo ou na carne das aves. Assim, é importante verificar a presença de *Salmonella* spp. em galinhas de fundo de quintal, possibilitando, assim, a monitoração do nível de contaminação das aves criadas na zona urbana de Fortaleza-CE. Além disso, verificar os níveis de enterobactérias dos ovos comercializados nas feiras livres da cidade de Fortaleza-CE analisando as práticas sanitárias que estão sendo adotadas pelos comerciantes.

7. HIPÓTESE CIENTÍFICA

As galinhas de fundo de quintal e seus subprodutos são reservatórios de *Salmonella* spp., causadora de problemas infecciosos em seres humanos e em animais.

8. OBJETIVOS

8.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a presença de *Salmonella* spp. em galinhas de fundo de quintal e em seus ovos em Fortaleza-CE.

8.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

8.2.1 Estabelecer a prevalência de *Salmonella* spp. em *swabs* cloacais e de arrasto, ração, conteúdo interno e externo dos ovos de galinhas de fundo de quintal (*Gallus gallus domesticus*) adultas em Fortaleza;

8.2.2 Monitorar sanitariamente os ovos comercializados nas feiras livres em Fortaleza;

8.2.3 Atualizar os fatores de risco de contaminação de *Salmonella* spp.

8.2.4 Propor orientação técnica do controle da salmonelose para os criadores de GFQ.

9. CAPÍTULO 1

Investigação de *Salmonella* spp. em galinhas criadas em fundo de quintal (*Gallus gallus domesticus*) e enterobactérias em ovos comercializados nas feiras livres na cidade de Fortaleza – Ceará

Investigation of *Salmonella* spp. in backyard chickens (*Gallus gallus domesticus*) and enterobacteria in eggs sold in street markets in the city of Fortaleza - Ceará

Investigation of *Salmonella* spp. in backyard chickens (*Gallus gallus domesticus*) and enterobacteria in eggs sold in street markets in the city of Fortaleza - Ceará

Valdez Juval Rocha Gomes Filho¹; Régis Siqueira de Castro Teixeira^{2*}; Elisângela de Souza Lopes³; Átilla Holanda de Albuquerque³; Suzan Vitória Girão Lima⁴; Ruben Horn Vasconcelos¹; Roberta Cristina da Rocha-e-Silva³; William Cardoso Maciel⁵

¹ Discente de Mestrado da Universidade Estadual do Ceará, UECE/ Faculdade de Ciências Veterinárias, Fortaleza, CE. E-mail: valdezbio@yahoo.com.br

² Discente de Pós Dr. da Universidade Estadual do Ceará, UECE/ Faculdade de Ciências Veterinárias, Fortaleza, CE. E-mail: regis_siqueira_teixeira@yahoo.com.br

³ Discente de Doutorado da Universidade Estadual do Ceará, UECE/ Faculdade de Ciências Veterinárias, Fortaleza, CE. E-mail: elisangeladesouzalopes@hotmail.com; atilaholanda@hotmail.com; robertarochavet@hotmail.com

⁴ Discente de Graduação da Universidade Estadual do Ceará, UECE/ Faculdade de Ciências Veterinárias, Fortaleza, CE. E-mail: xxsuper_suzanxx@hotmail.com

⁵ Pós-Doutor Docente da graduação e da Pós-Graduação da Universidade Estadual do Ceará, UECE/ Faculdade de Ciências Veterinárias, Fortaleza, CE. E-mail: william.maciell@uol.com.br

* Autor para correspondência

Resumo

A carne de aves e seus subprodutos são as principais fontes de proteína para o homem. No entanto, estão implicadas em surtos de toxi-infecção alimentar em todo o mundo, causada principalmente por *Salmonella* spp. Assim, o presente trabalho teve como objetivo investigar a presença de *Salmonella* spp. em galinhas de fundo de quintal (GFQ) e realizar um levantamento das enterobactérias encontradas nos ovos comercializados nas principais feiras livres da cidade de Fortaleza. Foi realizado coleta de *swab* cloacal individual em 405 galinhas caipiras de 18 criatórios, e coletado dez ovos por propriedade para análise do conteúdo interno e da casca. Nas feiras livres, foram adquiridos 90 ovos. Após coletados, os *swabs* cloacais foram colocados em 10 mL de Água Peptonada (AP) e em seguida transferido uma alíquota para o Rappaport-Vassiliadis (RV) e Seletino-Cistina contendo novobiocina (SCN). Após 24h /37°C foi realizado plaqueamento em Ágar Verde Brilhante (AVB) e MacConkey (MC). As colônias suspeitas para *Salmonella* spp. foram submetidas à identificação bioquímica, sendo a temperatura e período de incubação padronizado em todas as etapas em 37°C/24h, respectivamente. Os ovos coletados nas propriedades foram quebrados em becker e incubados em estufa bacteriológica a 37°C/24h. Em seguida, as amostras foram transferidas para RV e SCN e seguiu o mesmo procedimento realizado com *swab*. Os ovos das feiras livres foram processados da mesma forma que os ovos das propriedades, sendo realizados testes bioquímicos adicionais. Não houve isolamento de *Salmonella* spp. em nenhuma das amostras de *swabs* e ovos. Contudo, foi possível isolar *Escherichia coli*, *Citrobacter*, *Enterobacter* spp., *Proteus* spp., *Providencia* spp., *Klebsiella* spp., *Shigella* spp.,

Yersinia spp. dos ovos das feiras livres. De acordo com a metodologia utilizada, podemos sugerir que GFQ de Fortaleza possui o *status* sanitário satisfatório. Por outro lado, os ovos de feiras livres não apresentam boas condições higiênico-sanitárias.

Palavras-chave: *Swab* cloacal. *Salmonella* spp. Galinhas de fundo de quintal. Enterobactérias. Ovos.

Abstract

Poultry meat and byproducts are the main protein source for man. However, such foods are related to outbreaks of food-borne infections around the world, caused mainly by *Salmonella* spp. Therefore, the present study aimed to investigate the presence of *Salmonella* spp. in backyard chickens and to perform a survey of members of the Enterobacteriaceae family in eggs commercialized in the main free markets of Fortaleza. Individual cloacal swabs were collected from 405 backyard chickens from 18 houses and 10 eggs were also collected for analysis of eggshell and internal content from each sampled household. From the free markets, 90 eggs were collected. Once sampled, the *swabs* were incubated in Peptone Water and aliquots were placed in Rappaport-Vassiliadis broth and Selenite-Cystine broth added Novobiocin. Following, aliquots of each broth were streaked in plates Brilliant Green agar and MacConkey agar. Suspect colonies for *Salmonella* spp. were submitted to biochemical identification, with the temperature and incubation time standardized in 37°C/24h, respectively. Eggs collected from houses were broken in sterile beaker and maintained in bacteriological incubator at 37°C/24h. After such period, aliquots collected were incubated in Rappaport-Vassiliadis broth and Selenite-Cystine broth added Novobiocin, following the same bacteriological procedure mentioned previously for swabs. Eggs from free markets were analyzed with the same methodology as the house eggs, minus the antibiotic Novobiocin in the Selenite-Cystin broth, and with further biochemical tests used to identify the different members of the Enterobacteriaceae family. No *Salmonella* spp. were isolated from *swab* or egg samples. However, *Escherichia coli*, *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Proteus* spp., *Providencia* spp., *Klebsiella* spp., *Shigella* spp., *Yersinia* spp. were isolated from eggs of free markets. Accordingly to the methodology used, we may suggest that backyard chickens from Fortaleza present a satisfactory sanitary status. However, free market eggs did not present adequate sanitary conditions.

Key words: Cloacal *swab*. *Salmonella* spp.. Backyard chickens. Enterobacteriaceae. Eggs.

Introdução

A salmonelose, doença causada por bactérias do gênero *Salmonella*, é uma das zoonoses que trazem transtorno a saúde pública mundial devido à capacidade de causar toxi-infecção alimentar (WHITE et al., 1997), podendo levar o indivíduo ao óbito. Esta infecção está associada ao consumo de carne de aves e de produtos avícolas contaminados com os sorotipos paratífoides de *Salmonella* spp. (LOURENÇO et al., 2004; WHITE et al., 1997).

Apesar de todo o desenvolvimento tecnológico na produção de alimentos e da adoção de melhores medidas higiênicas e sanitárias (GAST et al., 2008), as aves ou o produto final podem se contaminar com *Salmonella* spp. através de aves de reposição, incubatório, animais silvestres e domésticos, falhas na biossegurança e no manejo, alimento contaminado, na linha de abate etc (CARDOSO e TESSARI 2008; FREITAS NETO et al., 2010).

Na criação intensiva em larga escala, micro-organismos como *Salmonella* spp., uma vez introduzidos nas granjas podem facilmente se propagar. Por não possuírem hospedeiros específicos, torna-se difícil a erradicação deste patógeno do ambiente de criação ou eliminá-los dos produtos provenientes de animais contaminados (CARDOSO e TESSARI, 2008; FREITAS NETO et al., 2010).

Existe outro tipo de criação que são as galinhas popularmente conhecidas como “galinhas caipiras”. De acordo com Silva (2005), a criação de galinha caipira pode ser dividida em duas categorias: a primeira são as criações em fundos de quintal, originando produtos caipiras, enquanto a segunda categoria é constituída por galinha caipira industrial ou frango de corte que são criados no sistema semi-intensivo ou no sistema caipira de criação, não se tratando de uma criação completamente desorganizada. A principal diferença entre as duas criações se dá em relação ao melhoramento genético que irá influenciar na produtividade, sendo o segundo tipo mais rentável.

No Brasil, foi registrado surtos de toxi-infecção alimentar causados por alimentos elaborados à base de ovos por bactérias do gênero *Salmonella*, evidenciando o risco potencial que esse alimento pode representar para a saúde pública (ALCOCER, 2004). Portanto, o objetivo deste trabalho foi investigar a presença de *Salmonella* spp. em GFQ e realizar um levantamento de enterobactérias presentes na casca e no conteúdo interno dos ovos.

Material e métodos

1. Pesquisa de *Salmonella* spp. em propriedades

A cidade de Fortaleza localiza-se ao norte do Estado do Ceará (3°, 44'- 6° 01'/38°, 23'-38°, 57'), no território brasileiro e possui 313,140 km² de extensão territorial. O índice pluviométrico varia entre 1.111-1.532 mm durante todo o ano e a altitude não ultrapassa 14,23-68 m (acima do nível do mar) (BRASIL, 2012).

Para o cálculo do número de galinhas a serem utilizadas, foram considerados os seguintes parâmetros: (a) prevalência esperada; (b) erro absoluto e (c) nível de confiança. O cálculo foi feito com a fórmula para amostras simples aleatórias, conforme proposto por Thrusfield (2004).

As coletas foram realizadas em 18 criatórios distribuídos nas seis regionais da cidade (três criatórios/ regional) (figura 1). Foram coletados um total de 405 *swabs* cloacais individuais das galinhas (*Gallus gallus domesticus*) de acordo com Brasil (1995). As aves tinham idade superior a oito semanas e eram submetidas a sistemas de criação extensivos ou semi-intensivos. Durante a visita às propriedades, foi realizado um questionário de múltipla escolha a fim de avaliar o perfil sanitário das criações.

Inicialmente foi realizado teste de soroglutinação rápida em placa (SAR) em todas as aves utilizando antígeno comercial *Pulor teste*. Seguidamente foram coletadas amostras de *swabs* cloacais e de arrasto nos poleiros e amostra de ração dos comedouros. Quando a propriedade não possuía um local específico para ração a coleta era realizada diretamente do chão. As amostras foram conservadas em isopor com gelo reciclável e encaminhadas ao Laboratório de Estudos Ornitológicos (LABEO) para processamento microbiológico.

Os *swabs* de arrasto foram coletados em cinco pontos distintos da propriedade onde as aves ficavam a maior parte do tempo. Os *swabs* utilizados para as coletas eram estéreis e umedecidos em água peptonada tamponada a 0,1%.

As amostras de *swabs* cloacais e de arrasto foram incubadas em tubos contendo 10 ml de Água peptonada por 24h a 37°C e após este período foram transferidos 1 mL e 0,1 mL da amostra para os caldos Selenito Cistina contendo novobiocina (SCN) (0,04g/1L) e Rappaport Vassiliadis (RV), respectivamente. Em seguida, alíquotas foram semeadas em placas contendo ágar Verde Brilhante (AVB) e MacConkey (MC), e após incubação a 37°C durante 24 h foram selecionadas colônias sugestivas para *Salmonella* spp. para a realização das provas de triagem com Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI), Ágar Lisina Ferro (LIA) e Sulfeto Indol Motilidade (SIM) e posteriormente realizada as provas bioquímicas complementares: arginina, ornitina, fenilalanina, vermelho de metila (VM), voges-Proskauer (VP), citrato de Simmons, malonato, ureia, inositol, sorbitol, manitol, rafinose, arabinose, adonitol, ramnose e dulcitol de acordo com QUINN et al. (1994).

Foram coletados dez ovos de cada propriedade. A cada dois ovos se obtinham um *pool* do conteúdo interno e um *pool* das cascas para processamento microbiológico como se segue: os ovos

foram quebrados assepticamente, sendo a casca separada do conteúdo interno e acondicionados em becker estéril. O conteúdo dos ovos foi incubado por 24h a 37°C de acordo com Wigley et al. (2001). Seguidamente foram coletadas amostras dos ovos com *swab* estéril e transferidas para tubos contendo RV e SCN e em seguida incubados em estufa bacteriológica por 24h a 37°C. Após este período, as amostras foram semeadas em placas contendo AVB e MC e após o crescimento da cultura bacteriana, colônias com características morfológicas sugestivas para *Salmonella* spp. foram semeadas em provas de triagem (TSI, LIA e SIM) que foram e incubados à mesma temperatura e período estabelecido nas etapas anteriores. Após a incubação, foi realizada as provas bioquímicas complementares descritas anteriormente.

A casca dos ovos foram pesadas em balança analítica de precisão e seguidamente transferidas para água peptonada tamponada a 0,1% (25g/225mL), sendo as etapas seguintes do processamento iguais às etapas de processamento do *swab* cloacal.

2. Pesquisa microbiológica em ovos de feiras livres

Foram adquiridos 90 ovos das principais feiras livres de cada regional da cidade de Fortaleza, entre fevereiro e março de 2013. Os ovos foram encaminhados ao LABEO e imediatamente submetidos ao processamento microbiológico.

Foi realizado *pool* de três ovos, totalizando 30 amostras de cascas e 30 amostras de conteúdo. Os ovos foram quebrados assepticamente, sendo a casca separada do conteúdo interno do ovo, e ambos armazenados em vidrarias estéreis. A casca dos ovos foram pesadas em balança analítica de precisão e seguidamente transferidas para água peptonada tamponada a 0,1% (25g/225mL) (BRASIL, 1995). Seguidamente foi transferido 0,1 mL e 1 mL da amostra para RV e Selenito Cistina (SC), respectivamente, sendo incubados a 37°C durante 24h. Após a incubação, alíquotas foram semeadas em placas contendo AVB e MC e posteriormente foram selecionadas colônias distintas para as provas de triagem, seguindo a mesma metodologia utilizada para o processamento dos ovos descrita anteriormente de acordo com QUINN et al. (1994).

O processamento do conteúdo dos ovos foi realizado de acordo com Wigley et al. (2001), o conteúdo foi colocado em béquer estéril e coletado uma amostra utilizando *swab* estéril. A amostra foi transferida para tubos contendo RV e SC e seguidamente foram semeadas em AVB e MC. Todas as etapas de processamento foram padronizadas com temperatura de 37°C durante 24 h. Após este período, colônias com características morfológicas distintas foram selecionadas e semeadas em provas de triagem e as provas bioquímicas complementares descritas anteriormente.

Resultados

3. Pesquisa de *Salmonella* spp. em propriedades

A tabela 1 informa o perfil sanitário das propriedades criadoras de galinhas de fundo de quintal na cidade de Fortaleza-CE.

A pesquisa revelou que o tipo de criação mais utilizado era a semi-intensiva (61,1%), seguido da extensiva (38,8%) e intensivo (5,5%). A maioria dos proprietários (61,0%) criavam galinhas com finalidade de consumo próprio da carne e ovos, sendo a comercialização das aves e subprodutos o interesse de 44,4% dos entrevistados. Os demais criadores (16,8%) criavam as aves apenas como lazer.

Na abordagem relacionada às questões sanitárias registrou-se que a troca de água dos bebedouros do recinto de criação das galinhas era realizada diariamente na maioria das propriedades (77,7%), embora algumas propriedades realizassem a limpeza duas vezes (16,6%) ou três vezes por semana (5,7%). A alimentação das aves era constituída de restos de comida juntamente com milho ou ração comercial (66,7%), apenas milho (22,2%) ou restos de comidas (11,1%).

Os criadores relataram que o contato das galinhas com aves silvestres ocorriam principalmente durante a oferta de alimentação ou água. A maioria dos proprietários (72,2%) afirmaram que as galinhas tinham algum tipo de contato com passeriformes, pombos, rolinhas ou corujas.

A maioria das propriedades (88,8%) nunca utilizou nenhum tipo de antimicrobiano ou programa de vacinação e também nunca foram assistidos por médicos veterinários. Um menor número de propriedades (11,1%) utilizavam vacinas e a possuíam assistência de médicos veterinários.

A média de positividade para *Salmonella* spp. a partir do exame SAR de sangue de GFQ foi de 27,1% (tabela 2). A regional V foi o local onde foi registrado o maior percentual de aves positivas no exame de SAR (52,8%), enquanto que a regional I apresentou a menor taxa (10,2%). As regionais II, III, IV e VI apresentaram respectivamente os seguintes percentuais de positividade: 36,3%; 15,3%; 25,7% e 22,8%.

Apesar do exame de SAR apresentar positividade para *Salmonella* spp., o exame microbiológico não identificou nenhuma amostra positiva nas amostras de *swabs* cloacais e conteúdos internos ou cascas de ovos.

4. Pesquisa microbiológica em ovos de feiras livres

Os resultados bacteriológicos dos ovos coletados em feiras livres demonstraram que 46,7% das amostras da casca foram positivas para alguma espécie de enterobactérias, enquanto que o percentual obtido para as amostras do conteúdo interno foi de 33,3%. Nas cascas dos ovos analisados foram isolados: *Escherichia coli* (13,3%), *Citrobacter* spp. (10,0%), *Enterobacter* (6,7%), *Proteus* spp. (6,7%), *Providencia* spp. (3,3%), *Klebsiella* spp. (3,3%), *Shigella* spp. (3,3%). No conteúdo interno, *Escherichia coli* (13,3%), *Shigella* spp. (6,7%), *Citrobacter* spp. (6,7%), *Yersinia* spp. (3,3%) e *Klebsiella* spp. (3,3%), como mostra a tabela 3.

Discussão

Assim como ocorreu nesta pesquisa, relatos científicos sobre soroprevalência de *Salmonella* spp. em GFQ a partir do teste SAR mostram que a positividade é frequentemente detectada. Maia et al. (2011) pesquisaram 489 amostras de soro sanguíneo de aves de fundo de quintal de propriedades rurais localizadas no município de Feira de Santana (BA), localizadas próximos a matrizeiros, e verificaram que 5,32% apresentaram reação sorológica positiva para *Salmonella* Gallinarum e *Salmonella* Pullorum, sendo que 36,36% eram afetadas. Buchala et al. (2006) analisaram amostras de sangue de aves de subsistência criadas próximos a matrizeiros localizados no Estado de São Paulo e observaram que 16,5% das galinhas apresentaram reação positiva para *Salmonella* Pullorum.

Apesar do relevante percentual de aves positivas para *Salmonella* spp. detectado a partir do exame de SAR, o teste microbiológico indicou negatividade para todas as amostras de *swabs* cloacais avaliadas. Esse resultado assemelha-se ao que foi observado por Gambiragi (2002) que analisou amostras de pintos de corte provenientes de três empresas localizadas na Região Metropolitana de Fortaleza (CE), pois ao analisar 300 amostras sanguíneas confirmaram que 33,3% das aves eram positivas a partir do teste de SAR, entretanto nos testes microbiológicos convencionais revelaram que todas as amostras eram negativas. O teste de soroaglutinação rápida em placas pode apresentar resultados falso-positivos, devido sua baixa especificidade e baixa sensibilidade (GAST e BEARD, 1990), isso se explica pela possibilidade de ocorrerem reações cruzadas que podem ser encontradas em aves infectadas por *E.coli*, *Enterobacter* spp., *Proteus* spp. e *Lactobacillus*, que compartilham antígenos com *Salmonella* spp. (BERGQVIST et al., 1973).

A negatividade detectada nos exames microbiológicos de material coletado das galinhas pesquisadas também se assemelhou aos resultados obtidos por Guimarães (2006) no qual pesquisou a prevalência de salmonelas em 300 aves (*Gallus gallus*) adultas criadas em propriedades não tecnificadas do Distrito Federal. Concluiu-se que essa ausência deve estar associada à ausência da

bactéria no ambiente em que as aves amostradas vivem ou a maior resistência dessas aves à infecção por salmonelas.

Alguns dos itens respondidos no questionário realizados entre os proprietários podem explicar a ausência da *Salmonella* spp. nas amostras observadas. Uma pequena parcela das propriedades (5,5%) criavam suas aves em regime intensivo. De acordo com Berchieri e Macari (2000) a introdução, instalação, permanência e disseminação da *Salmonella* spp. são favorecidas pelo sistema intensivo na avicultura industrial. Outro fator que possa ter influenciado a negatividade encontrada foi a troca de água e limpeza dos bebedouros realizada diariamente pela maioria das propriedades. Apesar de não se ter buscado compreender a forma específica de como a limpeza e desinfecção dos bebedouros era realizada, a substituição de água diariamente pode ter evitado a proliferação de micro-organismos trazidos por aves silvestres que utilizavam da água para a dessedentação. Segundo Gama et al. (2008), as bactérias contaminam a água principalmente através das fezes, material de expectoração e muco de animais domésticos e silvestre.

Em relação à taxa de contaminação microbiana de enterobactérias na casca e conteúdo interno de ovos de GFQ em pontos de venda em feiras livres de Fortaleza, evidenciou-se uma condição de deficiência higiênico-sanitária às quais o produto era submetido. Na literatura científica são poucos os trabalhos que trazem dados relacionados à prevalência de enterobactérias em ovos de galinha comercial e principalmente em aves de fundo de quintal, o que dificultou a comparação dos resultados. Entretanto a pesquisa de Musgrove et al. (2008) mostrou que a prevalência microbiana na casca dos ovos disponibilizado aos consumidores pode ser bem menor. Os pesquisadores esclarecem que nos Estados Unidos a lavagem dos ovos antes da venda é prática obrigatória e verificaram que os ovos antes desse procedimento sanitário possuem carga de até 83,2% de Enterobacteriaceae e outros micro-organismos, enquanto que após a lavagem essa taxa de contaminação pode diminuir para até 5,1%. Musgrove et al., 2004 afirmam que nas cascas dos ovos podem ser encontrados diversos micro-organismos, e assim servir como veículo de transmissão de importantes patógenos aos seres humanos (FAVIER et al., 2000).

Em relação à taxa de contaminação do conteúdo interno, Andrade et al. (2004) observaram que 58,18% dos ovos comercializados em feiras livres de Goiânia (GO) eram positivos, entretanto apenas 12,9% estavam contaminados por bactérias da família Enterobacteriaceae. Dessa maneira, o percentual de positividade detectada nas amostras de ovos vendidos em Fortaleza (33,3%) pode ser considerado preocupante, pois alguns desses micro-organismos podem causar toxi-infecção alimentar aos consumidores (STEPIEN-PYSNIAK, 2010).

A espécie de micro-organismo mais isolada na casca dos ovos e conteúdo interno foi a *Escherichia coli* (13,3%). A importância desse registro deve-se ao fato de que as galinhas são susceptíveis à colonização por *E.coli* O157: H7, um importante patógeno para seres humanos (GAMA et al., 2008), e assim como outros agentes infecciosos podem ser transferidos aos ovos imediatamente

após a oviposição (COPUR et al., 2010). Entretanto, normalmente a contaminação dos ovos ocorre após a postura, e a maioria dos ovos contém pouca ou nenhuma bactéria (MAYES, 1983).

Musgrove et al. (2008) também observaram que *E. coli*, assim como *Enterobacter*, foram os patógenos mais prevalentes em amostras de cascas dos ovos desinfetados e destinados ao comércio. Em relação ao conteúdo interno de ovos de feiras livres, Andrade et al. (2004) observaram que *E. coli* e *Citrobacter* spp., estavam presentes em apenas 1,85% das amostras analisadas, sendo menos isoladas apenas em relação à *Pseudomonas* (2,94%) e *Enterobacter* (5,51%). Adesiyun et al. (2006) observaram que *Klebsiella* spp. (12,9%), seguido por *Pseudomonas* (9,7%) foram os micro-organismos mais isolados de conteúdo internos de ovos vendidos em centros comerciais de Trinidad.

Conclusão

Não houve isolamento de *Salmonella* spp. nas amostras de *swabs* cloacais e de arrasto, cascas e conteúdo interno dos ovos.

A incidência de *Salmonella* spp. em galinhas de fundo de quintal está em níveis tão baixos que estão de acordo com o que preconiza a vigilância sanitária.

Os índices de enterobactérias servem de alerta para novas medidas sanitárias a serem adotadas pelos comerciantes de ovos vendidos em feiras livres.

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.

Esse artigo foi aprovado pelo Comitê de Ética para uso de Animais/Universidade Estadual do Ceará (CEUA) pelo seguinte número de protocolo: N° 11584764-2.

Referências

- ADESIYUN, A.; OFFIAH, N.; SEEPERSADSINGH, N.; RODRIGO, S.; LASHLEY, V.; MUSAI, L. Frequency and antimicrobial resistance of enteric bacteria with spoilage potential isolated from table eggs. *Food research international*, v. 39 n. 2, p 212-219, 2006.
- ALCOCER, I.R. *Sorotipagem, Fagotipagem, Caracterização Molecular de Cepas de Salmonella spp. e Avaliação Epidemiológica de Surtos Ocorridos no Paraná de 1999 a 2004*. 2004. 216f. Tese (Doutorado em Veterinária) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR.2004.
- ANDRADE, M. A.; CAFÉ, M. B.; DE SÁ JAYME, V.; ROCHA, P. T.; LEANDRO, N. S. M.; STRINGHINI, J. H. Avaliação da qualidade bacteriológica de ovos de galinha comercializados em Goiânia, Goiás, Brasil. *Ciência Animal Brasileira*, 2004.
- BERCHIERI, JR. A.; MACARI, M. Salmoneloses Aviárias. In: FACTA. *Doença das Aves*. Campinas: Cap. 4.1, p. 185-194. 2000.
- BERGQVIST, E.; ROSENDE, S.; BAUER, R. Factores que pueden alterar una prueba de hemoaglutinacion en el diagnostico de Pullorosis. *Agricultura Técnica.*, Santiago, v. 33, p. 204 – 208, 1973.
- BRASIL, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br> Acesso em: set. 2012.
- 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. Detecção de resposta sorológica contra *Mycoplasma* em aves de criatórios de “fundo de quintal” próximos a explorações comerciais do Estado de São Paulo. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 73, n. 2 p. 143-148, 2006.
- CARDOSO, A. L. S. P.; TESSARI, E. N. C. *Salmonella* na segurança de alimentos. *Arquivo do Instituto Biológico*, Descalvado, v. 70, n.1, p. 11- 13, 2008.

COPUR, G.; ARSLAN, M.; DURU, M.; BAYLAN, M.; CANOGULLARI, S.; AKSAN, E. Use of oregano (*Origanum onites L.*) essential oil as hatching egg disinfectant. *African Journal of Biotechnology*, v. 9 , n. 17, p. 2531-2538, 2010.

FAVIER, G.I.; ESCUDIERO, M.E.; VELÁZQUEZ, L.; GUZMAN, A.M.S. Reduction of *Yersinia enterocolitica* and mesophilic aerobic bacteria in egg-shell by washing with surfactants and their effect on the shell microstructure. *Food Microbiology*, v. 17, p. 73-81, 2000.

FREITAS NETO, O. C.; PENHA FILHO, R. A. C.; BARROW, P.; BERCHIERI JÚNIOR, A. Sources of humannon-typhoid salmonellosis: A review. *Brazilian Journal of Poultry Science*, Campinas, v. 12, n. 1, p. 01-11, 2010.

GAMA, N. M. S. Q.; C. K.; FERREIRA, N. T.; BUIM, M. R.; GUASTALLI, E. L.; FIAGÁ, D. A. M.. Conhecendo a água utilizada para as aves de produção. *Instituto Biológico, São Paulo*, v. 70, n. 1, p. 43 - 49. 2008.

GAMBIRAGI, A. P. O. *Salmonella sp. em frangos de corte de um dia de idade na Região Metropolitana de Fortaleza-CE*. 2002. Dissertação (Mestrado em Veterinária) - Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2002.

GAST R. K.; SHIVAPRASAD H. L.; BARROW P. A. *Salmonella* Infections. In: *Diseases of Poultry*. Saif YM, Fadly AM, Glisson JR, McDougald LR, Nolan LK, Swayne DE. Blackwell Blackwell, 12.ed, Athens, Georgia, p. 619-674, 2008.

GAST, R.K.; BEARD, C.W. Production of *Salmonella* Enteritidis contaminated eggs by experimentally infected hens. *Avian Diseases*, v. 34, p. 438 – 446, 1990.

GUIMARÃES H. K.: *Análise de prevalência de salmonelose em criações não tecnificadas de Gallus gallus no Distrito Federal*. 2006. Dissertação (Mestrado em Veterinária) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília. 2001.

LOURENÇO M. C. S.; REIS E. F. M.; VALLS R. *Salmonella* entérica subsp houtenae sorogrupo O: 16 em um paciente HIV positivo: relato de caso. *Revista Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 46, n. 3, p. 169-170, 2004.

MAIA, T. A. C.; RIBAS, J. R. L.; MOURA, L. G.; BATISTA, M. B.; GARRIDO, I.; SANTOS, J. C. M. Aves de quintal reagentes a *Salmonella* criadas entorno de matrizeiros no pólo avícola de Feira de Santana, Bahia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 38., 2011, Florianópolis. Santa Catarina, Revista de agroveterinárias, 2011. p. 611.

MAYES, F. J.; TAKEBALLI, M. A. Microbial contamination of the hen's egg: a review. *Journal of Food Protection*, v. 46, p. 1092-1098, 1983.

MUSGROVE, M. T.; JONES, D. R.; NORTH CUTT, J. K.; COX, N.A.; HARRISON, M.A. Identification of *Enterobacteriaceae* from washed and unwashed commercial shell eggs. *Journal Food Protection*, v. 67, n. 11, p. 2801-2804, 2004.

MUSGROVE, M. T.; NORTH CUTT, J. K.; JONES, D. R., COX, N. A.; HARRISON, M. A. Enterobacteriaceae and related organisms isolated from shell eggs collected during commercial processing. *Poultry science*, v. 87, n. 6, p1211-1218, 2008.

QUINN, P. J.; CARTIER, M. E.; MARKEY, B. *Clinical Veterinary Microbiology*, London: Wolfe, p. 237-242, 1994.

SILVA, E.N. Medidas gerais de controle de salmonelas em frangos. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, Campinas, *Anais... FACTA*, 2005, p. 229-237, 2005.

STEPIEN-PYSNIAK, D. Occurrence of gram-negative bacteria in hens' eggs depending on their source and storage conditions. *Polish journal of veterinary sciences*, v. 13, n. 3, p. 507-513. 2010.

THRUSFIELD, M. V. *Epidemiologia Veterinária: 2ª Ed.* São Paulo: Roca, 2004.

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.

WIGLEY, P.; BERCHIERI JR., A.; PAGE, K. L.; SMITH, A. L.; BARROW, P. A. *Salmonella enterica* Serovar Pullorum Persists in Splenic Macrophages and in the Reproductive Tract during Persistent, Disease-Free Carriage in Chickens. *Infection and Immunity*, Washington, v. 69, n. 12, p. 7873-7879, 2001.

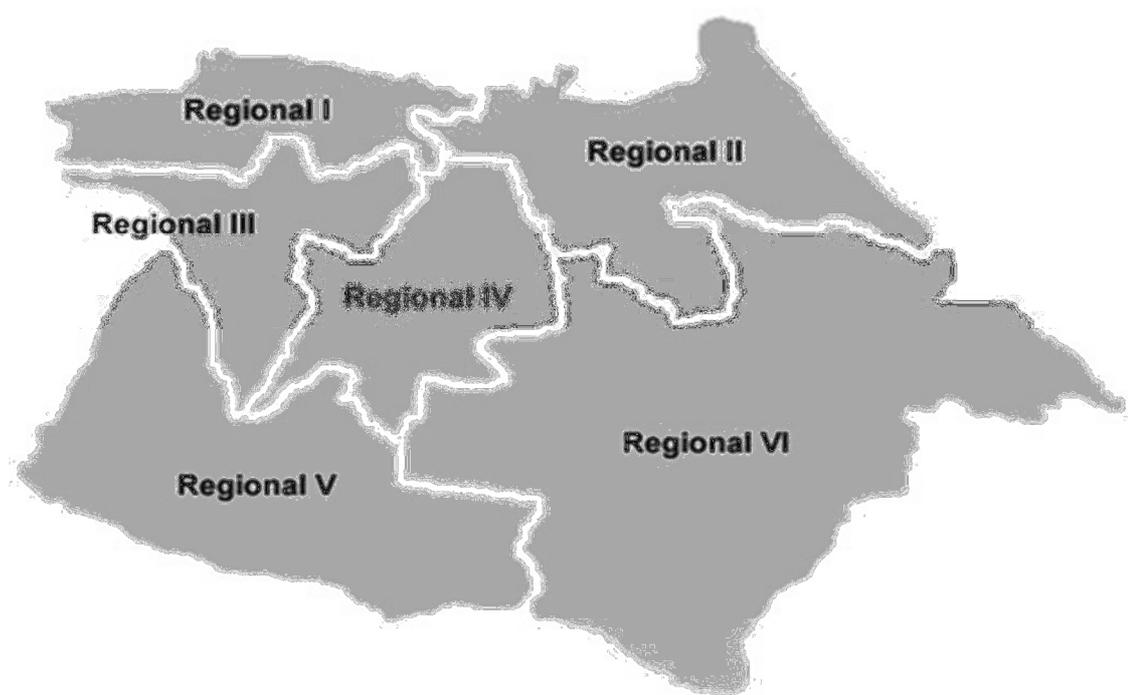


Figura 1 Regionais de Fortaleza (CE)
Fonte: <http://www.fortaleza.ce.gov.br> (2013)

Tabela 1. Perfil sanitário das propriedades criadoras de galinhas de fundo de quintal criadas na cidade de Fortaleza-CE.

Variável		n/N	Frequência (%)
Aves por propriedade	Até 25 aves	9/18	50,0
	De 25 a 100 aves	9/18	50,0
Sistema de criação	Extensivo	7/18	38,8
	Semi-intensivo	10/18	61,1
	Intensivo	1/18	5,5
Troca de água /Limpeza dos Bebedouros	Diariamente	14/18	77,7
	Duas vezes por semana	3/18	16,6
	Três vezes por semana	1/18	5,7
Utilização das vacinas*	Nunca utilizou	16/18	88,8
	Utilizou	2/18	11,1
Utilização de antibióticos**	Sim	15/18	83,3
	Não	3/18	16,6
Finalidade da criação	Consumo	7/18	38,8
	Comércio	4/18	22,2
	Consumo e comércio	4/18	22,2
	Lazer	3/18	16,8
Alimentação ofertada	Apenas ração comercial	0/18	0,0
	Apenas resto de comida	2/18	11,1
	Apenas milho	4/18	22,2
	Resto de comida mais milho e ração comercial	12/18	66,7
Contato com aves silvestres**	Sim	13/18	72,2
	Não	5/18	27,7
Presença de roedores ou fezes de roedores	Sim	9/18	50
	Não	9/18	50
Assistência por médicos veterinários	Sim	2/18	11,1
	Não	16/18	88,8

* Vacinas contra Marek e Doença de Newcastle

** Utilização apenas quando algum problema no plantel era detectado

*** Contato com passeriformes durante a oferta de alimentação, geralmente milho, ou que também utilizavam dos bebedouros.

Tabela 2. Prevalência de galinhas de fundo de quintal positivas no teste de soroglutinação rápida com antígeno “K” colorido para o diagnóstico de pulorose e tifo aviário.

Regional	Propriedade	Aves (N)	n° de aves positivas - (%)
I	1	15	0 - (0,0)
	2	20	3 - (15,0)
	3	33	4 - (12,1)
	Total	68	7 - (27,12%)
II	1	21	4 - (19,1)
	2	23	2 - (8,7)
	3	22	18 - (81,8)
	Total	66	24 - (36,4)
III	1	22	6 - (27,3)
	2	19	1 - (5,3)
	3	24	3 - (12,5)
	Total	65	10 - (13,4)
IV	1	20	8 - (40,0)
	2	16	7 - (43,8)
	3	30	2 - (6,8)
	Total	66	17 - (25,8)
V	1	20	8 - (40,0)
	2	24	20 - (83,3)
	3	26	9 - (34,6)
	Total	70	37 - (52,9)
VI	1	25	3 - (12,0)
	2	30	6 - (20,0)
	3	15	7 - (46,7)
	Total	70	16 - (22,8)
Total		405	111 - (27,4)

Tabela 3. Resultados bacteriológicos dos contaminantes das cascas e do conteúdo interno dos ovos das galinhas de fundo de quintal comercializados nas feiras livres de Fortaleza.

Bactérias	Micro-organismo contaminante (casca	Regional	Micro-organismo contaminante (conteúdo interno	Regional
	n/N (%)		n/N (%)	
<i>Escherichia coli</i>	4/30 (13,3%)	I, II, III, VI	4/30(13,3%)	I,II,III,IV
<i>Citrobacter</i>	3/30(10,0%)	I,II,IV	2/30 (6,7 %)	II,IV
<i>Enterobacter spp.</i>	2/30 (6,7%)	I,IV	0/30 (0,0%)	-
<i>Proteus spp.</i>	2/30 (6,7%)	II,VI	0/30 (0,0%)	-
<i>Providencia spp.</i>	1/30 (3,3%)	III	0/30 (0,0%)	-
<i>Klebsiella spp.</i>	1/30 (3,3%)	III	1/30 (3,3%)	VI
<i>Shigella spp.</i>	1/30 (3,3%)	V	2/30 (6,7%)	II,V
<i>Yersinia spp.</i>	0/30 (0,0%)	0/30 (0,0%)	1/30 (3,3%)	III
<i>Total</i>	14/30 (46,7%)	-	10/30 (33,3%)	-

10. Referências bibliográficas

AHN, B.Y.; KIM, J.W.; LEE, Y.B. I. Studies on the quality of locally produced eggs during marketing and distribution. II. Effects of washing treatment and storage temperature on egg quality. *Korean Journal of Animal Science*, Seoul, S. Korea, v. 23, n. 2, p. 92-96, 1981.

AKHTER, J.; HOSSAIN, M.T.; ISLAM, M.T.; SIDDIQUE, M.P.; ISLAM, M.A. Isolation and identification of microflora from apparently healthy caged parrots of Dhaka Zoo of Bangladesh. *Bangladesh Journal of Veterinary Medicine*, v.8, n.1, p.5-10, 2010.

ALBINO, L. F. T.; NERY, L. R.; VARGAS JÚNIOR, J. G. de; SILVA, J. H. V. da. Criação de frango e galinha caipira: avicultura alternativa. 2ª ed. *Revisada ampliada. Viçosa: MG. Aprenda fácil Editora*, 2005. 208p.

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

ANDRADE, M. A.; CAFÉ, M. B.; JAYME, V. de S.; ROCHA, P. T.; LEANDRO, N. S.M.; STRINGHINI, J. H. Avaliação da qualidade bacteriológica de ovos de galinha comercializados em Goiânia, Goiás, Brasil. *Ciência Animal Brasileira*, v. 5, n. 4, p. 221-228, 2004.

APHA – American Public Health Association. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4ª ed. Washington-DC, editado por: Frances Pouch Downes, Keithito. 2001. 676 p.

ARENALES, M. C. *Criação Orgânica de Frangos de Corte e Aves de Postura*, 2001. 186 p. CPT: Viçosa MG.

ARGOLO, G. R.; LIMA, D. J. Criação de aves (galinhas) para produção de ovos e carne em sistema de caipira. Disponível em <http://www.ceplac.gov.br/radar/semfaz/aves.htm>. Acesso: 11 dez. 2012.

AUSTIC, R. E.; NESHEIM, M. C. *Poultry production*. 13. ed. London: Lea Febiger, 1990.

BACK, A. Salmonelose. In: *Manual de Doença das Aves*. 2ª edição. Cascavel: Editora Integração, 2010. p. 174-195.

BAGER, F.; PETERSEN, J. Sensitivity and specificity of different methods for the isolation of *Salmonella* from pigs. *Acta Veterinaria Scandinavica*, Vanloese, v. 32, p. 473-481, 1991.

BAILEY, JS; COSBY, DE. *Salmonella* prevalence in free-range and certified organic chickens. *Journal of Food Protection*, v. 68, n.11, p.2451-53, 2005.

BALE, J. A.; DE PINNA, E. M.; THRELFALL, E. J.; WARD, L. R. Kauffmann-White Scheme - 2007: *Salmonella* Identification; Serotypes and Antigenic Formulae. London: *Centre for Infections Health Protection Agenc*, 2007. 168 p.

BANWART, G.J. *Foodborne agents causing illness*. 2. ed. New York: Van Nostrand Reinold, 1989. 773 p.

BARBOSA F. J.V.; NASCIMENTO M. P.S.B.; DINIZ F. M.; NASCIMENTO H. T. S.N. R. B. A. Sistema Alternativo de Criação de Galinhas Caipiras. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br>>. Acesso em 26.jul. 2013.

BARROW P.A.; SIMPSON, J.M.; LOVELL, M.A. Intestinal colonisation in the chicken by food-poisoning salmonella serotypes; microbial characteristics associated with faecal excretion. *Avian Pathology*, Huntingdon, v. 17, n. 3, p. 571-588, 1988.

BARROW, P. A.; HUGGINS, M. B.; LOVELL, M. A. Host Specificity of Salmonella Infection in Chickens and Mice Is Expressed In Vivo Primarily at the Level of the Reticuloendothelial System, *Infection and Immunity*, Washington, v. 62, n. 10, p. 4602-4610, 1994.

BARROW, P. A.; LOVELL, M. A.; BERCHIERI, A. J. The use of two live attenuated vaccines to immunize egg-laying hens against *Salmonella* enteritidis phage type 4. *Avian Pathology*, Huntingdon, v. 20, n. 4, 1991, p. 681-692.

BARROW, P.A. Les salmonelles paratyphoïdiques. *Revue scientifique et technique de l'Office International des Épizooties (OIE)*, 2000, v 2, n 19, p 351-375.

BARROW, P.A. Salmonella infections in poultry – problems and new thoughts on the possibilities of control. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, v.1, p.9-16, 1999.

BECKERS, H.J. et al. Fate of salmonellas and competing flora in meat sample enrichments in buffered peptone water and in Müller-Kauffmann's tetrathionate medium. *Journal Applied Bacteriology*, Oxford, v. 62, p. 97-104, 1987.

BELLO-PÉREZ, L.A. Serotipos de *Salmonella* identificados en Chorizos que se expenden en Acapulco, Guerrero, México. *Revista Latino-Americana de Microbiologia*, Amsterdam, v. 30, p. 37-53, 1996.

BERCHIERI JR, A.; BARROW, P. A. Reduction in incidence of experimental fowl typhoid by incorporation of a commercial formic acid preparation into poultry feed. *Poultry Science*, Champaign, v. 75, n. 3, p. 339-341, 1996.

BERCHIERI JR, A. Salmoneloses aviárias. In: BERCHIERI JR, A.; MACARI, M. *Doenças das aves*. FACTA, Campinas/SP, p. 185-196, 2000.

BERCHIERI JR, A.; FREITAS NETO, O. C. Salmoneloses. In: JÚNIOR, A. B.; SILVA, E. N.; DI FÁBIO, J.; SESTI, L.; ZUANAZE, M. A. F. 2ª Edição. *Doenças das Aves*. Campinas: FACTA, 2009. p. 435-454.

BERCHIERI JR., A.; BARROW, P.A. Patologias e métodos diagnósticos de *Salmonella* enteritidis em aves. In: CONFERÊNCIA APINCO 1995 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1995,. *Anais...* Curitiba: FACTA, p. 1 – 5,.1995.

BERCHIERI JR., A.; FREITAS NETO, O. C. Salmoneloses. In: BERCHIERI JR., A.; SILVA, E. N.; DI FÁBIO, J.; SESTI, L.; ZUANAZE, M. A. F. *Doenças das Aves*. 2 ed. Campinas: FACTA, 2009. 1104 p. cap. 4.1, p. 435-456.

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.

BIER, O. Bactérias intestinais. In: BIER, Otto. *Bacteriologia e imunologia*. Melhoramentos, Rio de Janeiro/RJ, 1976, p 501-547.

BOARD, R.G. *Egg Quality: a study of the hen's egg*. Edinburgh: Oliver and Boyd., p. 33, 1968.

BOLDRIN P. J. Infecção de aves por mutantes de *Salmonella* sorotipos Gallinarum, Pullorum e enteritidis com deleção nos genes cobS e cbiA, Dissertação (Mestrado), Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Campus de Jaboticabal , São Paulo, 2010.

BONA, E. A. M. Comparação de métodos de avaliação e atividade antimicrobiana de extratos vegetais sobre sorovares de *Salmonella* spp. de origem avícola. 2012. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Cascavel, 2012.

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).

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Departamento de Inspeção de produtos de origem animal – DIPOA. *Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal*. Aprovado pelo Decreto nº 30.691, de 29 de março de 1952, alterado pelos decretos nº 1.255, de 25 de junho de 1962; 1.236 de 02 de setembro de 1994; 1.182 de 08 de fevereiro de 1996 e 2.244, de 04 de junho de 1997. *Diário oficial da república federativa do Brasil*, Brasília, DF, 1997, p.108-109.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº62, de 26 de agosto de 2003. Aprova os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, p.14, 18 set. 2003, Seção 1, 2003.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº8, de 23 de janeiro de 1995. Aprova as alterações introduzidas no método analítico de carcaças de aves e pesquisa de *Salmonella* conforme normas anexas. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, p.1182, 27 jan. 1995, Seção 1, 1995a.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº126, de 03 de novembro de 1995. Aprova as “Normas de credenciamento e monitoramento de laboratórios de diagnóstico das Salmoneloses Aviárias (*S. enteritidis*, *S. Gallinarum*, *S. Pullorum* e *S. Typhimurium*)”. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, p.17694, 06 nov. 1995, Seção 1, 1995b.

BRASIL, Ministério da Saúde. Resolução n_ 12 de 02 de janeiro de 2001. Disponível em: www.abic.com.br/arquivos/leg_resolucao12_01_anvisa.pdf. Acesso em: 12 jan. 2013.

BRASIL. Portaria N° 1, de 21 de fevereiro de 1990. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Divisão de Inspeção de Carnes e Derivados – DICAR. Normas Gerais de Inspeção de Ovos e Derivados. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, n. 44, p. 4421, 06 de mar. 1990. Seção 1.

BUMSTEAD, N. Mecanismos genéticos de resistência a doenças. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2000, Campinas, *Anais...*, Campinas, FACTA, 2000, p. 25-30.

CALDERON, D.F.; FURLANETTO, S.M.P. Isolamento de *Salmonella* em diferentes meios seletivos de enriquecimento, tempos e temperaturas de incubação. *Revista de Microbiologia.*, São Paulo, n. 22, v. 2, p. 127-130, 1991.

CALDERON, D.F.; FURLANETTO, S.M.P. Isolamento de *Salmonella* em diferentes meios seletivos de enriquecimento, tempos e temperaturas de incubação. *Revista de Microbiologia.*, São Paulo, n. 22, v. 2, p. 127-130, 1991.

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

CAMPOS, L.C. *Salmonella* sp. In: TRABULSI, L.R. et al. *Microbiologia*. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 1999. p. 229 – 238.

CARTER, G.R. *Enterobacteriaceae*. In: CARTER, G.R. *Fundamentos de bacteriologia e micologia veterinária*. Livraria Roca, São Paulo/SP, p 144-154, 1988.

CARVALHO, F.B.C.; STRINGHINI, J.H.; JARDIM FILHO, R.M.; LEANDRO, N.S.M. PADUA, J.T.; DEUS, H.A.S.B. Influência da conservação e do período de armazenamento sobre a qualidade interna e de casca de ovos comerciais. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, Campinas, suplemento 5, p.100, 2003.

CENTER FOR DISEASE CONTROL, National Salmonella Surveillance Overview. Atlanta, Georgia: United States Department of Health and Human Service, CDC, 2011.

CHANTARAPANONT, W. et al. Factors influencing inactivation of *Salmonella enteritidis* in hard-cooked eggs. *Journal of Food Protection*, v. 63, n. 1, p. 36-43, 2000.

CHAPPELL, L.; KAISER, P.; BARROW, P.; B, JONES, M. A.; JOHNSTON, C.; WIGLEY, P. The immunobiology of avian systemic salmonellosis, *Veterinary Immunology and Immunopathology*, Amsterdam, v. 128, n. 1-3, p. 53-59, 2009.

CHEN, H. et al. Optimization of iron supplementation for enhanced detection of *Salmonella enteritidis* in eggs. *Journal of Food Protection*, v. 64, n. 9, p. 1279-1285, 2001.

CHERRINGTON, C.A.; IN'T VELD, J.H.J.H. Comparison of classical isolation protocols with a 24h screen to detect viable *Salmonella* in faeces. *Journal of Applied Bacteriology*, Oxford, v. 75, p. 65-68, 1993.

COGAN, T. A. et al. Growth of *Salmonella enteritidis* in artificially contaminated eggs: the effects of inoculum size and suspending media. *International Journal of Food Microbiology*, v. 70, p. 131-141, 2001.

CORRÊA, W.M.; CORRÊA, C.N.M. *Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos*. Editora médica e científica (Medsa), Rio de Janeiro/RJ, 2ª edição, capítulo 17, p 163-174, 1992.

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. 1996. 82 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal, 1996.

COX, N. A.; BERRANG, M. E.; CASON, J. A. *Salmonella* penetration of egg shells and proliferation in broiler hatching eggs – a review. *Poultry Science*, v. 79, p. 1571-1574, 2000.

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.

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

CRUZ, F.G.G.; MOTA, M.O.S. Efeito da temperatura e do período de armazenamento sobre a qualidade interna dos ovos comerciais em clima tropical úmido. In: CONFERÊNCIA APINCO'96 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1996, FACTA, Campinas, SP. *Anais...* Campinas, SP: Curitiba. *Anais...* Campinas: associação dos Produtores de pintos de corte. 210p, p.207 – 210, 1996.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Agricultura familiar: galinha caipira, 2003. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/> Acesso em: 08 fev. 2013.

EVANGELISTA J. *Tecnologia de alimentos*. São Paulo: Editora Atheneu, 2005. 652p. FACTA, 1996. p. 96.

FADDOUL, G. P., FELLOWS, G.W. A five years survey of the evidence of *Salmonella* in avian species. *Avian Diseases*, v.10, 1966, p.296-304.

FAGERBERG, D.J.; AVENS, J. S. Enrichment and plantig methodology for *Salmonella* detection in food. a review. *Journal of Milk and Food Thecnology*, Des Moines, Iowa, v. 39, n. 9, p. 628-646, 1976.

FENNEMA, O. R. *Food chemistry*. New York: Marcel Dekker, 1996. COGAN, T. A. et al. Growth of *Salmonella enteritidis* in artificially contaminated eggs: the effects of inoculum size and suspending media. *International Journal of Food Microbiology*, v. 70, p. 131-141, 2001.

FIGUEIREDO, E.A.P. Diferentes denominações e classificação brasileira de produção alternativa de frangos. In: CONFERÊNCIA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA – APINCO, Campinas 2001. *Anais...* Campinas: APINCO, 2001. p.209 – 222.

FRANÇA, J. M. A. Competitividade da avicultura de corte e a certificação de qualidade para o mercado externo. *Avicultura industrial*. V. 1152,n. 01, p. 20-25, 2007.

FRANCO, B. D. G. de M.; LANDGRAF, M. *Microbiologia dos Alimentos*. São Paulo:Atheneu,. 182 p, 2008.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. Microrganismos indicadores. In: *Microbiologia de alimentos*. São Paulo: Atheneu, 1996. p. 50-55.

FREITAS NETO, O. C.; PENHA FILHO, R. A. C.; BARROW, P.; BERCHIERI JÚNIOR, A. Sources of humannon-typhoid salmonellosis: a review. *Brazilian Journal of Poultry Science*, Campinas, v. 12, n. 1, p. 01-11, 2010.

GALVÃO-JÚNIOR, J. G. B.; BENTO, E. F.; SOUZA, A. F.. *Diagnóstico da realidade dos criatórios de aves na comunidade Base Física – Ipanguaçu/RN*. *Holos*, a. 25, v. 4, p. 120, 2009.

GAMA,N.M.SQ. *Salmonella* spp. em aves de postura comercial. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)- Faculdade de Ciências Agrárias e veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2001.

GAST R. K.; STONE, H. D.; HOLT, P. S.; BEARD, C. W. Evaluation of the efficacy of an oil-emulsion bacterin for protecting chickens against *Salmonella* enteritidis. *Avian Diseases*, Kennett Square, v. 36, n. 4, p. 992-999, 1992.

GAST, R. K. Salmonella Infections. In: CALNEK, B. W.; JOHN BARNES, .;BEARD, C. W.; REID, W. M.; YODER Jr. H. W. *Diseases of Poultry*. Iowa:Blackwell ublishing, 2008. p. 619-619.

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.; 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.; HOLT, P. S. Multiplication in egg yolk and survival in egg albumen of *Salmonella* enterica serotype enteritidis strains of phage types 4, 8, 13a and 14b. *Journal of Food Protection*, v. 64, n. 6, p. 865-868, 2001.

GAST, R. K.; PORTER JÚNIOR, R. E.; HOLT, P. S. Applying tests specific yolk antibodies to predict contamination by *Salmonella* enteritidis in eggs from experimentally infected laying hens. *Avian Diseases*, Kennett Square, v. 41, n. 1, 1997, p. 195-202.

GAST, R. K.; STONE, H. D.; HOLT P. S. Evaluation of the efficacy of oil-emulsion bacterins for reducing fecal shedding of *Salmonella* enteritidis by laying hens. *Avian Diseases*, Kennett Square, v. 37, n. 4, p. 1085-91, 1993.

GAST, R.K. *Salmonella* infections – Paratyphoid infections. In: *Disease of Poultry*. 12a ed. Iowa. p.636-665. 2008.

GAST, R.K. *Salmonella* infections, 1997, p. 81-122. In: CALNEY, B.W. (ed).

GELLI, S. D. Surtos humanos por Salmonela em alimentos. *Aves e Ovos*. Junho. 1995.

GONÇALVES, S. A. Comportamento de diferentes linhagens de frango de corte tipo caipira. 2013. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal dos Vales Do Jequitinhonha E Mucuri (UFVJM), Diamantina -2012.

GRIMONT, P. A. D.; WEILL, F. Antigenic Formulae of the *Salmonella* serovars. 9. ed. Paris: World Health Organization Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*, 2007. 166p.

GRIMONT, P. A. D; WEILL, F.X.; Antigenic Formulae do the *Salmonella* Serovars. Paris, França: Instituto Pasteur, 2007. WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella* [online], 9 ed. Disponível em: <http://www.pasteur.fr> Acesso em 30.set.2013

GUIBOURDENCHE, M.; ROGGENTIN, P.; MIKOLEIT, M.; FIELDS, P. I.; BOCKEMUHL, J.; GRIMONT, P.A.D.; WEILL, F. Supplement 2003-2007 (No. 47) to the

White-Kauffmann-Le Minor scheme. *Research in Microbiology*, Paris, v. 161, n. 1, p. 26-29, 2010.

GUIMARÃES H. K. et al., Análise de prevalência de salmonelose em criações não tecnificadas de *Gallus gallus* no Distrito Federal. Dissertação (Mestrado em Veterinária)- Faculdade De Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2006.

HARA-KUDO, Y. et al. Laying season and egg shell cracks on the growth of *Salmonella enteritidis* in the egg albumen during storage. *Journal of Food Protection*, v. 64, n. 8, p. 1134-1137, 2001.

HASSAN, J. O.; CURTISS III, R. Virulent *Salmonella typhimurium*-induced lymphocyte depletion and immunosuppression in chickens. *Infection and Immunity*, Washington, v. 62, n. 5, p. 2027-2036, 1994.

HELLMEISTER FILHO. P. Efeitos de fatores genéticos e do sistema de criação sobre o desempenho e o rendimento de carcaça de frangos tipo caipira. 2002. Tese (Doutorado em Agronomia)- Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

HELDRICH, K. (Ed.) *Salmonella*. In: ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis. 15 ed. Arlington, 1990. p. 467-476.

HENZLER, D. J.; OPITZ, H. M. The role of mice in the epizootiology of *Salmonella enteritidis* infection on chicken layer farms. *Avian Diseases*, Kennett Square, v. 36, n. 3, 1992, p. 625-631.

HIRSH, D.C. Enterobacteriaceae: *Salmonella*. In: Veterinary Microbiology. 2 Ed. Ames, Iowa: Blackwell, 2004. p. 69-74.

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

HUMBERT, F.; SALVAT, G. Risques de transmission des *Salmonelles* em aviculture: détection et prévention en Europe. *Revue scientifique et technique de l'Office International des Épidémies (OIE)*, v 16, n 1, 1997, p 83-90.

HUTCHISON, 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.* ,v. 67, p. 4-11, 2004.

IBA, A. M.; BERCHIERI JR, A. Studies on the use of a formic acid-propionic acid mixture (Bio-add™) to control experimental *Salmonella* infection in broiler chickens. *Avian Pathology*, Huntingdon, v. 24, n. 2, 1995, p. 303-311.

IQBAL, M.; PHILBIN, V.J.; WITHANAGE, G. S. K.; WIGLEY, P.; BEAL, R.K.; GOODCHILD, M. J.; BARROW, P.; MCCONNELL, I.; MASKELL, D. J.; YOUNG, J.; BUMSTEAD, N.; BOYD, Y.; SMITH, A. L.; Identification and Functional Characterization of Chicken Toll-Like Receptor 5 Reveals a Fundamental Role in the Biology of Infection with *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium. *Infection and Immunity*, Washington, v. 73, n. 4, p. 2344-2350, 2005.

ITO, N.M.K.; MIYAJI, C.I.; LIMA, E.A.; OKABAYASHI, S. Saúde gastrointestinal, manejo e medidas para controlar as enfermidades gastrointestinais. In: MENDES, A.A.; NÄÄS, I.A.; MACARI, M. *Produção de frangos de corte*. FACTA, Campinas/SP, p 233-236, 2004.

JAKABI, M.; BUZZO, A. A.; RISTORI, C. A.; TAVECHIOI, A. T.; SAKUMA, H.; PAULA, A. M. R.; GELLI, D. S. Observações laboratoriais sobre surtos alimentares de *Salmonella* sp. ocorridos na grande São Paulo, no período de 1994 a 1997. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, São Paulo, v. 58, n. 1, p. 47-51, 1999.

JAY, J. M. *Modern food microbiology*. 6.ed. Maryland:Aspen. 2000

JOVER, F. P. Enfermidades y Parasitos de Las Aves Domesticas. 2ed., *Ministério da Agricultura, Madrid*, p. 145 – 187, 1968.

JUNE, G.A. et al. Relative effectiveness of selenite cystine broth, tetrathionate broth and Rappaport-Vassiliadis Medium for the recovery of *Salmonella* from raw flesh and other highly contaminated foods: precollaborative study. *The Journal of AOAC International*, Washington, v. 78, n. 2, p. 375-380, 1995.

JÚNIOR, A.B. Doenças de transmissão vertical. In: Simpósio Técnico de Produção de Ovos, 7., 1997, Campinas. *Anais...* São Paulo: APA, 1997. p.133-142.

JÚNIOR, A.B. MACARI M. *Doenças de aves e suínos*. Campinas: FACTA, 2000. 800 p.

KELLY, M.T.; BRENNER, D.J.; FARMER, J.J. Enterobacteriaceae. In: LANNETE, E. H. (Ed). *Manual of clinical microbiology*. 4 ed. Washington: American Society for Microbiology, 1985. p. 271-272.

KIM, J.Y. et al. *Salmonella* prevalence in market weight pigs before and after shipment to slaughter. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE EPIDEMIOLOGY AND CONTROL OF SALMONELLA IN PORK, 3., 1999, Washington. Proceedings. Washington: [s.n.], 1999. p.191-193.

KRUININGEN, H.J.V. Sistema gastrointestinal - salmonelose. In: CARLTON, W.W.; MCGAVIN, M.D. *Patologia veterinária especial de Thomsom*. Artmed, Porto Alegre/RS, 2ª edição, p. 86-88, 1998.

LANDGRAF, M. Micro-organismos Indicadores. In: *Microbiologia dos Alimentos*. São Paulo: Ed. Atheneu, 2008. 182 p. cap. 3, p. 27-31.

LEOTTA, G., et al. Prevalence of *Salmonella* Spp. in Backyard Chickens in Paraguay. *International Journal of Poultry Science*, 9.6: 533-536 2010.

LEVINSON, W.; JAWETZ, E. Bastonetes Gram-negativos relacionados ao trato entérico. In: LEVINSON, W.; JAWETZ, E. *Microbiologia médica e imunologia*. Artmed, Porto Alegre/RS, 4ª edição, 1998, p78-91.

MACHADO, A.A.C. Prospecção sorológica de *Salmonella Pullorum* em pombos (*Columbia livia*) capturados em granjas avícolas de Fortaleza. 2000. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2000.

MAIA, T. A. C.; RIBAS, J. R. L.; MOURA. L. G.; BATISTA, M. B.; GARRIDO, I.; SANTOS, J. C. M. Aves de quintal reagentes a *Salmonella* criadas entorno de matrizeiros no pólo avícola de Feira de Santana, Bahia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 38., 2011, Florianópolis. Santa Catarina, Revista de agroveterinárias, 2011. p. 611.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. BRASIL. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal/ divisão de operações industriais. Ofício Circular DOI/DIPOA nº 007/99 de 19/05/1999. Registro do Produto “Frango Caipira ou Frango Colonial” ou “Frango Tipo ou Estilo Caipira” ou “Tipo ou Estilo Colonial”. Brasília, DF: Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 1999.

MARCHESI, J. A.P.; ARALDI-FAVASSA, C. T.. Estudo da incidência de *Salmonella enteritidis* em populações de galinhas caipiras no município de Concórdia (Santa Catarina, Brasil) por meio de teste sorológico. *Ágora: revista de divulgação científica*, 18.1: 29-34, 2013.

McILROY, S. G.; McCracken, R. M.; NEILL, S. D.; O'BRIEN, J. J. Control, prevention and eradication of *Salmonella enteritidis* infection in broiler and broiler breeder flocks. *Veterinary Record*, London, v. 125, n. 22, 1989, p. 545-548.

MEIJERHOF, R. Efectos Del transporte en huevos fértiles y pollitos: desde el huevo al pollito. *Avicultura Profesional*, v. 16, nº 3, p. 18-20. 1998.

MILLER, R.G. et al. Xylose-lysine-tergitol-4: an improved selective agar medium for the isolation of *Salmonella*. *Poultry Science*, Champaign, v. 70, p.2429-2432, 1991.

MIYAMOTO, T.; KITAOKA, D.; WITHANAGE, G. S.; FUKATA, T.; SASAI, K.; BABA, E. Evaluation of the efficacy of *Salmonella enteritidis* oil-emulsion bacterin in an intravaginal challenge model in hens. *Avian Diseases*, Kennet Square, v. 43, n. 3, p.497-505, 1999.

MORENG, R.E.; AVENS, J.S. *Ciência e produção de aves*. São Paulo: Roca, 1990. p. 227-249.

MORITA, T.; KITAZAWA, H.; IIDA, T.; KAMATA, S. Prevention of *Salmonella* cross-contamination in a oilmeal manufacturing plant. *Journal of Applied Microbiology*, Oxford, 2005.

MOURA, A. M. A.; OLIVEIRA, N. T. E.; THIEBAUT, J. T. L.; MELO, T. V. Efeito da temperatura de estocagem e do tipo de embalagem sobre a qualidade interna de ovos de

codornas japonesas (*Coturnix japonica*). *Ciência e Agrotecnologia*, v. 32, n. 2, p. 578-583, 2008.

MURAKAMI, A.E.; BARRIVIERA, V.A.; SCAPINELLO, C.; BARBOSA, M.J.; VALÉRIO, S.R. Efeito da temperatura e do período de armazenamento sobre a qualidade interna do ovo de codorna japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) para consumo humano. *Revista Unimar*, Maringá, v.16, suplemento 1, p. 13-25, 1994.

NÁDIA C. W.; FLÁVIO R. S.; EWERTON L. L.; ANDRESSA C. S.; JOSÉ C. I.; ROBERTA C., ADRIANO O. T. C., Avaliação preliminar da presença de anticorpos Anti *Salmonella* sp, *Mycoplasma* spp e vírus da doença de Newcastle em frangos de produção tecnificadas e de fundo de quintal, Disponível em: <http://www.nucleovetguarapuava.com.br/wp-content/uploads>. Acesso em: 12 jan. 2013.

NAKAMURA, M.; NAGAMINE, N.; TAKASHI, T.; SUZUKI, S.; SATO, S. Evaluation of the efficacy of a bacterin against *Salmonella* enteritidis infection and the effect of stress after vaccination. *Avian Diseases*, Kennet Square, v. 38, n.4, 1994, p. 717-724.

NASCIMENTO E SALLE (2003), *Manual de Incubação*. Ed.Facta, Jaboticabal. . 2ª. Ed. 2003

NAVARRO, M. P. Infecção por *Salmonella* enteritidis em reprodutoras pesadas na América Latina. *Anais...* da conferência APINCO, p. 165 – 170, 1995.

NICHOLAS, R.A.; CULLEN, G.A.; DUFF, P. Detection of *Salmonella*. *The Veterinary Record*, v. 126, n. 6, p. 147, 1991.

NIELSEN, B., BAGGESEN, D.L. Update on laboratory diagnosis of subclinical salmonella infections in pigs. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON EPIDEMIOLOGY AND CONTROL OF SALMONELLA IN PORK, 2., 1997, Copenhagen. Proceedings. Copenhagen: [s.n.], 1997. p. 19-31

NUNES, A.G.B. Anticorpos Anti-*Salmonella* pullorum, Anti-*Mycoplasma gallisepticum* e Anti-*Mycoplasma synoviae*, em galinhas (*Gallus gallus domesticus*) de Fundo de Quintal de Propriedades Rurais do Município de São José do Egito, Estado de Pernambuco (Monografia) – Curso de medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande, 2008.

NURMI, E.; RANTALA, M. New aspects of *Salmonella* infection in broiler production. *Nature*, v. 241, p. 210-211, 1973.

OLIVEIRA, B.L.; Processamento e industrialização de ovos. In: SIMPÓSIO GOIANO DE AVICULTURA, 4., 2000, Goiânia, GO. *Anais...* Goiânia, GO: Associação Goiana de Avicultura, 2000.p. 177-186.

OLIVEIRA, D. D. SILVA, E. N. Salmonela em ovos comerciais: ocorrência, condições de armazenamento e desinfecção da casca. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 52, n. 6, p. 1-9, 2000.

OLIVEIRA, S. D. Detecção e Identificação de *Salmonella* sp., *S. Typhimurium*, *S. enteritidis*, *S. Gallinarum* e *S. Pullorum* através da reação em cadeia pela polimerase (PCR) em materiais de origem avícola. Porto Alegre: UFRGS, 2000. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias), Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

OLIVEIRA, S. J. De. *Salmonella*. In. Bacteriologia Especial, Sullina, Porto Alegre – RS, p. 162 – 177, 1984.

ORNELLAS, L.H. *Técnica Dietética*. Ed. Atheneu, São Paulo. 7ª. ed. 2001.

OVIEDO-RONDÓN, E. O. Tecnologias para mitigar o impacto ambiental da produção de frangos de corte. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v.37, p. 239-252, 2008.

PASIAN, I.M.D.L. Bem estar em aves poedeiras. Trabalho realizado na Disciplina de Comportamento e Bem-estar animal, Pirassununga, 2006. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

PERESI, J. T. M.; ALMEIDA, I. A. Z. C. de; TEIXEIRA, I. S. de C.; LIMA, S. I. de; CARNICEL, F. A.; HOFFMANN, F. L. Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos Contaminados por *Staphylococcus Aureus*, Ocorridos no Período de Dezembro de 2001 a Abril de 2003, na Região de São Jose do Rio Preto – SP. *Revista Instituto Adolfo Lutz*, v. 63, n. 2, p. 232-237, 2004.

POPPE, C. *Salmonella* Infections in the Domestic Fowl. In: Wray, C. e Wray, A. (eds.). *Salmonella in Domestic Animals*. 463p. CABI Publishing, New York, USA, 2000. p. 107-132.

PORTER-JR, R. E. Bacterial enteritides of Poultry. *Poultry Science*, Champaign , v.77, n. 8, p. 1159–1165, 1998.

RAPPOLD, H.; BOLDERDIJK, R. Modified lysine iron agar for isolation of *Salmonella* from food. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v. 38, n. 1, p. 162-163, 1979.

ROCA, F.L., CIFUENTES, E. R., FELIU, M. C., LLOVERAS, A. G. e PONTES, M. P. *Higiene y Patología Aviaries*. Real Escuela de Avicultura, Barcelona, p. 59 – 73, 1991.

ROCHA, P.T.; MESQUITA, A.J.; ANDRADE, M.A.; LOULY, P.R.; NASCIMENTO, M.N. *Salmonella* spp. em forros de caixa de transporte e órgãos de pintos de um dia. *Arquivo brasileiro de medicina veterinária e zootecnia*, v 55, n 6, p 672-676, 2003.

RODRIGUES, K.R.M. Aspectos da qualidade sanitária na cadeia produtiva de ovos in natura em Campinas e cidades vizinhas. Campinas, SP. 133f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 1998.

RUPLEY, A.E. *Manual de clínica aviária*. São Paulo, Rocca, 1999. 283-332.

SAGRILO E.; GIRÃO E. S.; BARBOSA F. J.V.; RAMOS G. M.; AZEVEDO J. N.; MEDEIROS L. P.; NETO R. B. A.; LEAL T. M. Validação do sistema alternativo de criação de galinha caipira. Sistema de Produção. 2003. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/AgriculturaFamiliar/RegiaoMeioNorteBrasil/GalinhaCaipira/index.htm>>. Acesso em: 05 ago. 2013.

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.

SCHOENI, 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*, n. 24, p. 385-396, 1995.

SCHOENI, J. L.; GLASS, K.A.; MCDERMOTT, J.L.;WONG, A.C.L. *Growth and penetration of and in eggs.* , v.24, p.385396, 1995.

SELEIM, M.A.; EL-PRINCE, E. Effect of storage and boiling on some quality characteristics of eggs. *Assiut Journal of Agricultural Sciences*, Assiut, Egypt, v. 31, n. 4, p. 1-15, 2000.

SGARBIERI, V. C. *Proteínas em alimentos protéicos*. São Paulo: Livraria Varela. 1996.

SHARMA, R.M.; PARKER, R.A. Evaluation of culture media for isolation of *Salmonella* from faeces. *Journal of Applied Microbiology*, Washington, v. 18, n. 4, p. 589-595, 1969.

SHELOBOLINA, E. S.; SULLIVAN, S. A.; O'NEILL, K. R.; NEVIN, K. P.;LOVLEY, D. R. Isolation, characterization, and U (VI)-reducing potential of a facultatively anaerobic, acid-resistant bacterium from low-pH, nitrate- and U (VI)-contaminated subsurface sediment and description of *Salmonella subterranea* sp. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v. 70, n. 5, p. 2959-2965,2004.

SHERROD, P.S. et al. Relative effectiveness of selective plating agars for recovery of *Salmonella* species from selected high-moisture foods. *Journal of AOAC International*, Washington, v. 78, n. 3, p. 679-690, 1995.

SHIVAPRASAD, H. L.; BARROW, P. A. Pullorum Disease na Folw Typhoid. In: CALNEK, B. W.; JOHN BARNES, H.; BEARD, C. W.; REID, W. M.; YODER Jr. H. W. *Diseases of Poultry*. Iowa: Blackwell Publishing, 2008. p. 619-619.

SHIVAPRASAD, H.L. Typhose et pullorose aviaires. *Revue scientifique et technique de l'Office International des Épizooties (OIE)*, v 2, n 19, p 405-424, 2000.

SHIVAPRASAD, H.L.; BARROW, P.A. *Salmonella* infections – Pullorum disease and fowl typhoid. In: *Disease of Poultry*. 12^a ed. Iowa. p.620-536. 2008.

SILVA JR, E. A. da. *Manual de Controle Higiênico Sanitário em Alimentos*. 5ª ed. São Paulo: Livraria Varela, 2002. 623 p.

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

SILVA, E.N. et al. Salmonelas em farinhas de origem animal destinadas à fabricação de rações. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Campinas, v. 25, n. 2, p. 169-173, 1973.

SILVA, E.N. Medidas gerais de controle de salmonelas em frangos. In: Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas, Campinas, *Anais... FACTA*, 2005, p. 229-237, 2005.

SILVA, E.N. *Salmonella enteritidis* em avicultura, o que de prático podemos fazer? In: Conferência Apinco 96 de Ciência e Tecnologia Avícolas, 1996, Curitiba. *Anais... Campinas: associação dos Produtores de pintos de corte*, p.207 – 210 1996.

SILVA, R.D.M. *Sistema Caipira de Criação de Galinhas*. Piracicaba SP, 2004. 120 p.

SKANDAMIS, P. N.; NYCHAS, G. J. E. Development and evaluation of a model predicting the survival of *Escherichia coli* O157:H7 NCTC 12900 in homemade eggplant salad at various temperatures, pHs, and oregano essential oil concentrations. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 66, n. 4, p. 1646-1653, apr. 2000.

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

SOBRAL, M.N.R. *Controle de doenças em Aves. Caipiras*. Saúde Animal, 2007.
Disponível em: agrolink.com.br/saudeanimal/NoticiaDetalhe.aspx?codNoticia=59421. Acesso em: 06 agosto. 2013.

STELLMACHER, W. Infecções por *Salmonellas*. In: BEER, J. *Doenças infecciosas em animais domésticos. Parte 2* (doenças produzidas por bactérias e fungos e intoxicações, Editora Roca, São Paulo/SP, p 65-92, 2005.

STONE, G.G.; OBERST, R.D.; HAYS, M.P.; MCVEY, S.; CHENGAPPA, M.M. Detection of *Salmonella* Serovars from Clinical Samples by Enrichment Broth Cultivation-PCR Procedure. *Journal of Clinical Microbiology*, v.32, n.7, p.1742-1749, 1994.

TECHNOLOGIES target *Salmonella* in eggs. *Food Engineering*, jul/aug. 2000.

TERRA, C. Ovo, a proteína do 3º milênio. In: CONGRESSO DE PRODUÇÃO E CONSUMO DE OVOS, 1999, São Paulo. *Anais...* São Paulo: Associação Paulista de Avicultura, 1999. p. 8-9.

TERZOLO, H.R. Estudio bacteriológico de las salmonelosis de las aves (*S.pullorum*, *S. gallinarum*, *S. enteritidis* y *S. typhimurium*) em La América Latina. In: Simpósio Internacional sobre Salmonelose Aviária. Rio de Janeiro. 2011.

TIMMS, L. M.; MARSHAL, R. N.; BRESLIN, M. F. Laboratory assessment of protection given by an experimental *Salmonella* enteritidis PT4 inactivated, adjuvant vaccine. *The Veterinary Record*, London, v. 127, n. 25-26, p. 611-614, 1990.

TIZARD, I. Salmonellosis in wild birds. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*, v. 13, n. 50, p. 50-66, 2004.

TODD, E. C. D. Risk assessment of use of cracked eggs in Canada. *International Journal of Food Microbiology*, v. 30, p. 125-143. 1996.

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

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

UBA (2011) *União Brasileira de Avicultura*. www.uba.org.br. Acesso em 09/12/2012.

VASSILIADIS, P. et. al. *Salmonella* isolation with Rappaport-Vassiliadis enrichment medium seeded with different size inocula of pre-enrichment culture of meat products and sewage polluted water. *Journal of Hygiene*, London, v. 95, p. 139-147, 1985.

VIEIRA, ADRIANA C.P.; CAPACLE, VIVIAN HELENA; BELIK, WALTER. Estrutura e organização das cadeias produtivas das carnes de frango e bovina no Brasil: reflexões sob a ótica das instituições. In: VII Congresso Latino Americano de Sociologia Rural. Quito-Peru. p. 20-24, 2011.

VON RÜCKERT, D. A. S. Comparação dos métodos microbiológico convencional, imunoanálise e reação da polimerase em cadeia (PCR) no monitoramento de (*Salmonella*) spp. em frangos de corte durante o abate. Viçosa, 2006. 62 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais. 2006.

WIGLEY, P.; HULME, S.D.; POWERS, C.; BEAL, R.K.; BERCHIERI,-JR, A.; SMITH, A.; BARROW, P. Infection of the Reproductive Tract and Eggs with *Salmonella enterica* Serovar Pullorum in the Chicken Is Associated with Suppression of Cellular Immunity at Sexual Maturity. *Infection and Immunity*, Washington, v. 73, n. 5, p. 2986-2990, 2005.

WILLIAMS, J. E. *Avian salmonellosis*. In: HOFSTAD, M. S. Diseases of poultry. 8.ed. Ames : The Iowa State University Press, 1984. p. 65-66.

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

WOODWARD, M. J.; GETTINGBY, G.; BRESLIN, M. F.; CORKISH, J. D.; HOUGHTON, S. The efficacy os Salenvac, a *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotype enteritidis iron-restricted bacterin vaccine, in laying chickens. *Avian Patology*, Huntingdon, v. 31, n. 4, p. 383-392, 2002.

WRAY, C.; DAVIES, R. H.; CORKISH, F. D. *Enterobacteriaceae*. In: JORDAN, F. T. W.; PATTISON, M. Poultry Diseases, 4th edition. Ed.Saunders, London, 1998.

11. APÊNDICE

QUESTIONÁRIO

1. Dados Gerais Data:..... PROP N°
- 1.1 Proprietário:.....
- 1.2 Telefones: Celular.....Fixo
- 1.3 Endereço :.....
- 1.4 Bairro:.....
- 1.5 Ponto de referência.....
- 1.6 Responsável pela coleta
- 1.7 Número de amostras coletadas: Ovos () *swabs* cloacais () ração() *swabs* de arrasto () água () fotos ()
2. Dados referentes à propriedade:
- 2.1 Sistema de criação: Extensivo () Semi-intensivo ()
- 2.2 Idade única () Idade múltipla ()
- 2.3 Espécie única()Diversas espécies ()
- No caso de diversas espécies especificar.....
- 2.4 Qual a ave doméstica criada com predileção?
- Galinha () Capote () Patos () Gansos () Perus () Pombos ()
- Outros.....
- 2.5 As aves entram em contato com aves silvestres ?
- Sim () Não ()
- Em caso afirmativo especificar as espécies.....
- 2.6 Número aproximado de aves:
- Até 25 aves () 25 a 100 aves () Mais de 100 aves ()

2.7 Presença de roedores ou fezes de roedores:

Ausente () Alojamento das aves () Área de circulação () Local de armazenamento de alimento () Outro ()

Em caso de outro especificar.....

2.7 Estado geral das aves:

Apáticas () Aparência normal ()

Presença de Ectoparasitas: Sim () Não ()

Sinais Respiratórios: Descarga nasal () Ronqueira () Tosse ()

Sinais Digestórios: Diarreia () Diarreia branca () Diarreia sanguinolenta ()

Sinais Nervosos: Paralisia das asas () Paralisia das patas () Torcicolo ()

Outros sinais.....

2.8 Alimentação ofertada:

Ração comercial () Ração caseira () Somente milho () Outro ()

Em caso de outro especificar.....

Água

Com que frequência você troca a água dos bebedouros

2.9 Práticas de vacinações:

Utiliza frequentemente () Utiliza raramente () Nunca utilizou ()

Em caso positivo especificar.....

2.10 Utilização de antibióticos :

Utiliza frequentemente () Utiliza raramente () Nunca utilizou ()

Em caso positivo especificar.....

2.10 Possui alguma assistência veterinária: Sim () Não ()

2.11 Surtos

2.11.1 Já houve na propriedade alguma doença que matasse praticamente todas as aves em poucos dias? Sim () Não ()

2.11.2 Em quanto tempo a população era dizimada?

1 dia () 2 dias () 3 dias ()

2.11.3 Quais os principais sinais observados.

Respiratório: Descarga nasal () Ronqueira () Tosse ()

Digestório: Diarreia () Diarreia branca () Diarreia sanguinolenta ()

Nervoso: Paralisia das asas () Paralisia das patas () Torcicolo () Outros sinais.....

2.11.4 Em caso afirmativo da resposta anterior,

No último ano () Há mais de 1 ano () Nos últimos 4 anos () Há mais de 4 anos

2.11.5 Esta enfermidade foi observada também em outras espécies?

Sim () Não () Em caso afirmativo especificar.....

2.11.6 Qual(is) o(s) período(s) o surto é observado com mais frequência:

Inverno () Verão () Não observou ()

Em caso afirmativo, especificar meses.....

3.0 Dados referentes aos proprietários:

3.1 Escolaridade: 1º Grau incompleto () 2º Grau incompleto () 2º Grau completo () Superior

3.2 Atividade: Desempregado () Aposentado/ pensionista () Sub emprego ()

3.3 Responsáveis pela criação: Homem () Mulher () Homem/ Mulher () Filhos () Outros ()

3.4 Gostaria de ser visitado regularmente por veterinários e que suas aves fossem submetidas a vacinações?

Sim () Não ()

4. Qual a finalidade da carne e dos ovos criados em sua propriedade?

.....

5. Você conhece outra (s) pessoa(s) que cria galinhas? Quem? Endereço?

.....

6. Qual a origem das aves?

.....