

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
TRABALHO DE CONCLUSÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**CONTROLE DE *Salmonella* Enteritidis EM AVES, ATRAVÉS DO USO DE
BACTERINAS COMERCIAIS- REVISÃO DE LITERATURA.**

Autora: Priscila Regina Guerra

PORTO ALEGRE

2010

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
TRABALHO DE CONCLUSÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**CONTROLE DE *Salmonella* Enteritidis EM AVES, ATRAVÉS DO USO DE
BACTERINAS COMERCIAIS- REVISÃO DE LITERATURA.**

Autora: Priscila Regina Guerra

**Monografia apresentada à Faculdade de
Veterinária como requisito parcial para
obtenção da Graduação em Medicina
Veterinária.**

Orientadora: Prof^a Dr^a. Marisa Cardoso

**Co-orientadora: MSc. Doutoranda Débora
Pellegrini**

PORTO ALEGRE

2010

G934c Guerra, Priscila Regina

Controle de Salmonella Enteritidis em aves, através do uso de bacterinas comerciais : revisão de literatura / Priscila Regina Guerra - Porto Alegre: UFRGS, 2010/1.

26f. – Monografia (Graduação) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Comissão de Estágio, Porto Alegre, BR-RS, 2010/1. Marisa Ribeiro de Itapema Cardoso, Orient. , Débora Pellegrini, Co-orient.

1. Imunologia veterinária 2. Salmonella Enteritides 3. Aves de postura I. Cardoso, Marisa Ribeiro de Itapema, Orient. II. Pellegrini, Débora, Co-orient. III. Título.

CDD 619

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, pelo estímulo, dedicação e apoio incondicional.

Ao Daniel pelo companheirismo e apoio em todos os momentos.

À professora Dra. Marisa Cardoso, pela confiança, incentivo e ensinamentos que levarei para a vida.

À Débora Pellegrini pelo incentivo, amizade e ensinamentos.

A toda equipe do Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva da UFRGS, pela amizade e incentivo.

RESUMO

A *Salmonella* Enteritidis é um dos principais agentes da toxinfecção alimentar em humanos, estando associado, principalmente, ao consumo de alimentos de origem avícola. No Brasil, desde 2003, está permitido o uso de bacterinas em matrizes comerciais. A imunização das aves com vacinas inativadas surgiu como uma ferramenta auxiliar para o controle e a prevenção da *Salmonella* Enteritidis. Segundo estudos, a vacinação confere proteção parcial contra a colonização intestinal, entretanto constatou-se uma significativa redução da excreção da bactéria para o ambiente e a diminuição da contaminação dos ovos, fator o qual é de extrema importância para a saúde pública, visto que os ovos são o principal veículo de transmissão de salmonelas para o homem. Portanto, recomenda-se o uso das bacterinas desde que seja complementado com a utilização dos demais métodos de controle e prevenção disponíveis.

Palavras-chave: *Salmonella* Enteritidis, bacterinas, aves de postura.

ABSTRACT

Salmonella Enteritidis is one of the main causes of human food poisoning. Salmonellosis has been highly associated to consumption of poultry-derived food. Since 2003, the use of bacterins in laying hens is allowed in Brazil. The poultry immunization with inactivated vaccines has become a useful tool for control *Salmonella* Enteritidis. According to studies, the vaccination result in a partial protection against intestinal colonization, however, a significant reduction of bacterium elimination to the environment and the reduction of egg contamination are possible. Reduction on egg contamination is extremely important to the consumers, since eggs are the main vehicle to human infection by *Salmonella* Enteritidis. Therefore, the use of bacterins is highly recommended in association with other available methods of control and prevention.

Keywords: *Salmonella* Enteritidis, bacterins, laying hens.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	6
2	REVISÃO DE LITERATURA	8
2.1	Caracterização do gênero <i>Salmonella</i> sp.	8
2.2	Nomenclatura	9
2.3	Método de isolamento microbiológico	9
2.4	Patogenia	10
2.5	Epidemiologia	12
2.6	<i>Salmonella</i>: importância na avicultura	13
2.7	Importância para a saúde pública	14
2.8	Medidas de prevenção e controle	15
2.9	Imunidade para <i>Salmonella</i> sp.	16
2.10	Vacina inativada	17
3	DISCUSSÃO	20
4	CONCLUSÃO	22
	REFERÊNCIAS	23

1 INTRODUÇÃO

O intenso desenvolvimento do setor avícola, nas últimas décadas, tornou-o rentável e competitivo, apresentando excelentes índices de produtividade, o que contribui de forma significativa para o fornecimento de proteína animal de baixo custo à população. O setor agroindustrial avícola brasileiro é um dos mais organizados do país, fator que lhe conferiu um padrão de competitividade internacional.

O Brasil é considerado atualmente o maior exportador mundial de carne de frango e ocupa a sétima posição no *ranking* mundial de produção de ovos. O consumo de carne de frango no país, em 2006, foi de 35,68 kg/habitante, sendo produzidas 6.622.587 toneladas de carne para o mercado interno e 2.712.959 toneladas de carne para a exportação, segundo dados da ABEF, 2010 (Associação Brasileira de Exportadores de Frango).

Os estados brasileiros que mais exportam de carne de aves estão localizados na Região Sul e contribuem com 81% do total das exportações, Santa Catarina é responsável por 29% desse total; enquanto que o Paraná e o Rio Grande do Sul participam com 28% e 24%, respectivamente. Os demais 19% correspondem aos estados de São Paulo, Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso e Distrito Federal.

Na produção de frango de corte para o abate, o sistema mais utilizado é o de integração. Nesse sistema, a empresa é a provedora de pintos de um dia e de alguns insumos como vacinas, ração e suporte técnico; cabendo ao produtor participar com a mão de obra, as instalações e os insumos que por ventura a empresa não ofereça. O estado de Santa Catarina é referência nesse modelo de produção, pautado na parceria entre a indústria, os técnicos e os produtores rurais. Desse modo, tem obtido excelentes resultados de produtividade.

Houve um importante incremento na participação da indústria avícola no mercado externo. Desse modo, tornou-se imprescindível que medidas sanitárias sejam implantadas na criação dos lotes, principalmente devido ao fato da produção de aves ocorrer em sistemas intensivos de criação, com uma alta densidade animal por área. Isso representa uma situação favorável para a disseminação de vários patógenos e a ocorrência de surtos de enfermidades que causam elevados prejuízos econômicos à indústria avícola (SESTI, 2004). É importante ressaltar que questões sanitárias são de suma importância para o desenvolvimento de um setor agropecuário, sendo frequentemente responsáveis por restrições e rescisões de contratos de importação.

A salmonelose é uma das doenças bacterianas de maior impacto na avicultura, pois além de causar perdas econômicas, consiste em grande ameaça à saúde pública. Produtos derivados de frango, como carne e ovos, são considerados a maior fonte de infecção desse patógeno para o homem. (BAUMLER *et al.*, 2000).

Por ser um agente muito persistente no meio ambiente, possuir um grande número de hospedeiros e uma grande facilidade de multiplicação, o controle das salmoneloses representa uma tarefa extremamente complexa, exigindo o envolvimento de todos os elos da cadeia produtiva avícola.

A presença de *Salmonella* sp. em frangos de abate, em suas carcaças e em produtos derivados, demonstra o quanto o controle da contaminação dos animais, ainda na criação, é de grande importância para conter a cadeia de transmissão desta infecção. Sob esse novo contexto, novas medidas de controle das salmoneloses nas granjas vêm sendo desenvolvidas com intuito de minimizar a contaminação dos produtos. A imunização das aves surgiu como uma ferramenta auxiliar para o controle da infecção, visto que a vacina inativada promete prevenir a colonização intestinal pela bactéria e dessa forma reduzir a excreção de fezes contaminadas para o ambiente, além de diminuir a produção de ovos contaminados.

O presente trabalho teve como objetivo relatar as considerações citadas na literatura sobre a utilização de bacterinas comerciais para a prevenção e o controle da *Salmonella* Enteritidis em estabelecimentos matrizeiros.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Caracterização do gênero *Salmonella* sp.

O gênero *Salmonella* é composto por bacilos Gram negativos, não produtores de esporos, pertencentes à família das Enterobacteriaceae. A maioria é móvel, através de flagelos peritríquios, com exceção dos sorovares Gallinarum, Pullorum e Arizonae (HOLT *et al.*, 1994).

As bactérias desse gênero são anaeróbias facultativas, são organismos quimiotróficos, apresentam metabolismo tanto respiratório quanto fermentativo, têm a capacidade de reduzir nitratos a nitritos, fermentam glicose e geralmente não fermentam a lactose ou o fazem lentamente (CLARKE *et al.*, 1993; HOLT *et al.*, 1994). *Salmonella* sp. produz ácido e frequentemente gás, com exceção da *S. Typhi*, a partir de D-glicose e outros carboidratos. São indol negativas, produtoras de ácido sulfídrico e são capazes de utilizar o citrato como única fonte de carboidratos.

O teste de lisina descarboxilase pode ser utilizado para distinguir espécies de *Salmonella* do gênero *Proteus*, que não apresenta essa enzima (QUINN *et al.*, 2005). A uréia não é hidrolisada pelo gênero *Salmonella*, característica que também é utilizada na distinção de *Proteus* sp. (HOLT *et al.*, 1994). O pH ótimo para a multiplicação de *Salmonella* é ao redor de 7,0, sendo a temperatura ótima de crescimento entre 35-37°C, entretanto esse gênero apresenta uma faixa de multiplicação que varia de 7°C a 45°C (FRANCO *et al.*, 1996).

Os microorganismos desse gênero têm como característica serem resistentes à dessecação, ao congelamento, podendo sobreviver por mais de nove meses em solos úmidos e protegidos da luz (CARTER *et al.*, 1979).

2.2 Nomenclatura

Salmonella recebeu esse nome em homenagem ao pesquisador, Daniel Salmon (TORTORA *et al.*, 2000). Atualmente, o gênero *Salmonella* compreende mais de 2.500 sorovares identificados (MONTVILLE e MATTHEWS, 2008), sendo a maioria desses sorovares isolados de vertebrados. A classificação antigênica está baseada no esquema de Kaufmann e White, que divide o gênero em sorovares, tendo como base a identificação dos antígenos somáticos (O), flagelares (H) e capsulares (Vi) (QUINN *et al.* 2005).

O gênero *Salmonella* apresentava originalmente duas espécies: *S. enterica*, *S. bongori*. Posteriormente, foi proposta a inclusão de uma terceira espécie *S. subterranea* (SHELOBOLINA *et al.*, 2004). *S. enterica* está dividida em seis subespécies: *S. enterica* subsp. *enterica*, *S. enterica* subsp. *salamae*, *S. enterica* subsp. *arizonae*, *S. enterica* subsp. *diarizonae*, *S. enterica* subsp. *houtenae* e *S. enterica* subsp. *indica* (POPOFF *et al.*, 2003). Sendo a *S. enterica* subsp. *enterica* de maior importância em medicina veterinária e humana (QUINN *et al.*, 2005). Os sorovares da subespécie *enterica* são escritos de forma não italizada e com a primeira letra maiúscula, já para os sorovares de *S. bongori* utilizam-se fórmulas antigênicas.

2.3 Método de isolamento microbiológico

O método padrão de detecção de salmonelas, preconizado pelo Plano Nacional de Sanidade Avícola (PNSA) do Ministério da Agricultura Pecuária Abastecimento (MAPA), é o microbiológico convencional (BRASIL, 1995). Embora, em alguns países, como os Estados Unidos e a Dinamarca, sejam realizados programas de controle baseados também em provas sorológicos como o teste de ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) e em técnicas moleculares como a RT-PCR (*Real time polymerase chain reaction*).

O protocolo de isolamento microbiológico consiste em quatro etapas fundamentais para o processamento: o pré-enriquecimento, com intuito de recuperar as células lesadas; o enriquecimento seletivo, com intuito de inibir a microbiota competidora; o isolamento das colônias em meios seletivos, para promover o desenvolvimento preferencial das colônias de

Salmonella com características típicas e por fim, a realização de análises bioquímicas, com intuito de confirmar a presença da bactéria.

O *Codex Alimentarius* recomenda a ausência de qualquer sorovar de *Salmonella* em 25 gramas de amostra analisada, destacando os produtos de origem animal, como os ovos e as carnes.

2.4 Patogenia

O gênero *Salmonella* apresenta ocorrência mundial, e vasta distribuição na natureza, podendo infectar mamíferos, aves e répteis. Sua principal rota de infecção é a fecal-oral, embora, também possa haver outras vias de infecção, como a pele danificada, a mucosa do trato respiratório superior e a conjuntiva.

Há sorovares de *Salmonella* sp. adaptados a um hospedeiro específico como é o caso de *S. Typhi* para humanos, *S. Choleraesuis* para os suínos, *S. Gallinarum* e *S. Pullorum* para as aves (SHWARTZ *et al.*, 2000), entretanto outros sorovares afetam um grande número de hospedeiros, desenvolvendo um importante papel na disseminação da infecção entre as diferentes espécies. As salmonelas podem ser encontradas nos mais distintos ambientes como: água, solo, grãos, carnes, vísceras cruas, vegetais, entre outros. A bactéria pode estar presente no trato gastrointestinal de diversas espécies animais. Todos os sorovares são considerados patogênicos ou potencialmente patogênicos para o ser humano e para os animais, todavia existe uma diferença na virulência entre os diferentes sorovares (FINLAY *et al.*, 1989; LAX *et al.*, 1995).

A virulência da salmonela está associada a sua capacidade de invadir os tecidos do hospedeiro. Após a aderência na superfície das células da mucosa intestinal, por meio da fixação pelas fímbrias, as bactérias desse gênero induzem a formação de invaginações na membrana celular (SALYERS; WHITT, 1994). Os sorovares de *Salmonella* clinicamente associados com enterite induzem uma resposta secretória no epitélio intestinal, com o recrutamento e passagem de neutrófilos para a porção interna do lúmen intestinal. As invaginações da membrana facilitam a entrada da bactéria, havendo a multiplicação desta dentro dos fagossomos formados. O processo complexo de invaginação é mediado por vários genes cromossômicos, ao passo que o crescimento dentro da célula depende da presença de

plasmídeos de virulência (QUINN *et al.*, 2005). Após atravessar o epitélio intestinal, a *Salmonella* encontra outro obstáculo da imunidade natural: os macrófagos.

Os sorovares que causam a infecção sistêmica penetram nos macrófagos e ativam seus mecanismos de virulência, que permitem a evasão das substâncias bactericidas dos fagócitos. Essa capacidade de resistir ao processo de fagocitose faz com que a infecção se perpetue, uma vez que permite a migração dos fagócitos infectados para outros órgãos do sistema retículo-endotelial. Facilitando, assim, a disseminação da bactéria no hospedeiro (OHL; MILLER, 2001). Os efeitos oxidativos tóxicos dos radicais livres produzidos pelos fagócitos são minimizados pela atividade das enzimas bacterianas catalase e superóxido dismutase (QUINN *et al.*, 2005).

Ocorre também resistência à destruição pelo sistema complemento, devido ao comprimento das cadeias de lipopolissacarídeo (LPS) da parede bacteriana. Cadeias longas de LPS previnem que os componentes do complemento se liguem à membrana externa da parede bacteriana. Além disso, os LPS também são responsáveis pelos efeitos endotóxicos da infecção por salmonela, que ocorre principalmente em quadros septicêmicos.

Nos animais infectados, frequentemente, as salmonelas localizam-se nas mucosas do íleo, no ceco e no colón, bem como nos linfonodos mesentéricos. Embora, a maioria dos microorganismos seja eliminada pelos mecanismos de defesa do hospedeiro, esses podem persistir através de infecção subclínica, tornando-se excretores assintomáticos e representando um risco de disseminação para outros animais. Pode ocorrer, também, infecção latente, na qual as salmonelas estão presentes na vesícula biliar, entretanto não são eliminadas (QUINN *et al.*, 2005). A infecção nos animais pode variar de um estado de portador subclínico a uma septicemia aguda, podendo ocorrer infecções entéricas e sistêmicas, dependendo do sorovar envolvido.

A infecção por salmonelas paratíficas em aves jovens causa sonolência, diarreia, asas caídas e refugagem (BERCHIERI J. A., 2000). A doença clínica em aves adultas, embora seja rara, pode ser decorrente de infecções latentes ou subclínicas, em animais submetidos a fatores estressantes. Nesses casos, os animais podem apresentar queda na produção de ovos, em função de alteração dos ovários e do ouviduto, os quais podem conter folículos irregulares, hemorrágicos e necróticos (BERCHIERI J. A., 2000).

2.5 Epidemiologia

As salmonelas são carregadas por uma ampla variedade de hospedeiros, incluindo animais silvestres, doméstico e seres humanos. A complexa epidemiologia de *Salmonella* na cadeia de produção de aves envolve a transmissão vertical, via ovo, desencadeando o nascimento de pintos infectados. Envolve, também, a transmissão horizontal, com a contaminação do ambiente e da ração, além da existência de diferentes espécies de animais que atuam como reservatório para a bactéria, como roedores e aves silvestres.

Em aves comerciais a apresentação de um quadro septicemia é causada, geralmente, por *S. Gallinarum* (tifo aviário) e *S. Pullorum* (pulorose): esses dois sorovares são altamente adaptados a essa espécie. Entretanto, ambos têm sido erradicados em muitos países mediante o controle sorológico e abate de lotes positivos. As salmonelas paratíficas, geralmente, não causam a doença clínica em aves, compreendem o grupo de salmonelas não adaptadas a uma espécie específica. Os sorovares Enteritidis e Typhimurium recebem destaque nesse grupo, por estarem frequentemente associados à toxinfecção alimentar em humanos (DESIN *et al.*, 2009). Em 1985, Moore registrou o primeiro caso autêntico de salmonelose paratífica em aves domésticas, durante um surto de enterite infecciosa em pombos.

Segundo um estudo realizado por Oliveira e Silva (2000) há a presença de *Salmonella* na casca de 9,6% dos ovos disponíveis ao consumo. Acredita-se que a contaminação interna dos ovos se deva, principalmente, a contaminação ambiental (cama contaminada) e a qualidade da casca. Todavia, é importante salientar que *S. Enteritidis* dissemina-se entre aves também por transmissão vertical (NETO *et al.*, 2008). Em aves jovens *S. Enteritidis* pode causar doença clínica, podendo acarretar no aumento dos índices de mortalidade e de refugagem. No entanto, aves adultas apresentam baixa suscetibilidade aos efeitos desse patógeno, podendo ocorrer a colonização intestinal e disseminação sistêmica sem haver incremento dos índices de morbidade e de mortalidade (DESIN *et al.*, 2009).

A presença de salmonelas no intestino, na pele e entre as penas das aves pode causar contaminação das carcaças durante o abate e o processamento (HUMPHREY *et al.*, 1988). Entretanto, além da contaminação do produto, há uma série de outros fatores de risco que estão relacionados com a ocorrência da toxinfecção alimentar em humanos, como, por exemplo, a contaminação cruzada dos alimentos, a falta de higiene na preparação, ausência de tratamento térmico e a estocagem inadequada, permitindo que o microorganismo se multiplique e atinja a dose infectante.

A prevenção e controle de *Salmonella* na cadeia de produção de aves constituem em uma tarefa árdua, porém de extrema importância para a saúde pública. As principais fontes de infecção dos lotes são os pintos oriundos de matrizes infectadas, infecção cruzada nos incubatórios, água contaminada, inalação de poeira, contaminação fecal da ração e da água e o consumo direto de material fecal por aves jovens. Pode haver transmissão direta para aves jovens, a partir de aves mais velhas que sejam portadoras crônicas e assintomáticas, bem como por fômites (botas, sacos, caixas de transportes, bandejas, entre outros). Portanto, as medidas utilizadas para a redução da bactéria nas aves e no ambiente, devem estar focadas: na biossegurança, na aquisição de aves, rações e matérias-primas livres de *Salmonella*, peletização das rações e imunização dos animais.

2.6 *Salmonella*: importância na avicultura

Em uma análise retrospectiva da importância da salmonelose na avicultura é possível identificar duas fases bastante distintas. A primeira fase compreende desde a descoberta da doença até meados da década de 70. Nesse período, eram temas de pesquisa das salmonelas principalmente *S. Gallinarum* e *S. Pullorum*, visto que esses dois sorovares causavam mortalidade dos lotes, ocasionando grandes perdas econômicas. Em decorrência disso, muitos países, incluindo o Brasil, implementaram programas de erradicação destes dois sorovares. Como resultado desse trabalho abrangente e contínuo, a maioria dos plantéis de genética de aves tornou-se livre desses sorovares.

Em relação aos casos de toxinfecção em humanos, no final da década de 80 o sorovar Typhimurium era o mais frequentemente isolado. Entretanto, no início da década de 90, houve um aumento dos isolamentos de *S. Enteritidis*, passando de 1,2% dos isolados para 64,9% dos isolados de amostras humanas e de zero para 40,7% das amostras não humanas, segundo dados do Instituto Adolfo Lutz, ressaltando um aumento significativo no número de isolados em 1993, principalmente proveniente de ovos, aves (matrizes) e amostras de meio ambiente (SILVA; DUARTE, 2002). Os estudos epidemiológicos, incluindo a fagotipagem e ribotipagem, sugerem a entrada do sorovar Enteritidis via importação de material genético avícola contaminado, provavelmente no final da década de 80 (SILVA; DUARTE, 2002).

As taxas exponenciais de crescimento da avicultura comercial brasileira da década de 90 criaram condições favoráveis para a perpetuação e proliferação desse agente nos

plantéis. Além disso, o uso indiscriminado de antimicrobianos, em especial as quinolonas, favoreceu o surgimento de lotes positivos para *S. Enteritidis*.

Atualmente, o sorovar *Enteritidis* figura como importante agente de infecção em humanos. Há uma hipótese que esse sorovar tenha ocupado o nicho ecológico que ficou vago após a erradicação do sorovar *Gallinarum* em aves domésticas (RABSCH *et al.*, 2000). Essa hipótese sugere que a epidemia em humanos por *S. Enteritidis* aumentou em número de casos nas mesmas regiões em que se combateu o sorovar *Gallinarum* no campo: supõe-se que essa circunstância tenha facilitado a circulação da *S. Enteritidis*. A competição entre os sorovares faz com que o sorovar com maior sucesso de transmissão exclua o outro. Há fortes indícios que esses dois sorovares competem a nível intestinal pelos mesmos receptores, e acredita-se que o epítipo imunodominante dos lipolissacarídeos de *S. Gallinarum* e de *S. Enteritidis* sejam similares (RABSCH *et al.*, 2000). Está evidente que há uma correlação entre esse dois sorovares, visto que a imunização de aves para *S. Gallinarum* também protege contra a colonização por *S. Enteritidis*, entretanto não há proteção cruzada contra o sorovar *Typhimurium* (RABSCH *et al.*, 2000).

2.7 Importância para a saúde pública

No passado a principal motivação do controle das infecções por salmonela em aves era reduzir as perdas decorrentes da doença clínica nos animais. Atualmente, sua implicação na saúde pública tornou a prevenção da salmonelose uma realidade preocupante para toda a avicultura, pois, a principal via de contaminação humana é através do consumo de produtos avícolas (BETANCOR *et al.*, 2005), em especial as carnes, os ovos e os derivados, principalmente a maionese caseira (SILVA; DUARTE, 2002). As infecções por *Salmonella* podem ser graves, principalmente, em pessoas muito jovens, idosas e imunodeprimidos. Os principais sinais clínicos associados com a infecção por *Salmonella* em humanos são enterite, febre e gastroenterite. A forma mais comum de apresentação clínica é a gastroenterite com náusea, vômito e diarreia com ou sem febre (OHL; MILLER, 2001).

Um surto é definido como dois ou mais casos de infecção confirmada laboratorialmente em pessoas que compartilham a mesma fonte de exposição, sendo consideradas como dose infectante para os indivíduos sadios contagens bacterianas entre 10^5 e 10^7 unidades formadoras de colônia. Os sorovares adaptados ao homem são o *S. Typhi* e o *S.*

Paratyphi, entretanto sorovares como *S. Typhimurium* e *S. Enteritidis* estão mais relacionados às toxinfecções alimentares em humanos na atualidade.

S. Enteritidis faz parte do grupo de patógenos emergentes transmitidos por alimentos, tendo como característica não alterar a aparência dos alimentos contaminados, dessa forma, incapacitando a detecção visual. O primeiro relato de isolamento de *S. Enteritidis* é de maio de 1888 por Gärtner, na Alemanha, o pesquisador isolou o agente do baço de um jovem de 21 anos falecido após consumir carne bovina crua.

A primeira evidência do envolvimento de *S. Enteritidis* com infecção originada do consumo de alimentos preparados com ovos ocorreu em um grande surto nos Estados Unidos em 1986, relacionado a uma massa comercial congelada e recheada com uma mistura de queijo, condimentos esterilizados e ovos crus (SILVA; DUARTE, 2002). A contaminação dos ovos ocorre, principalmente, no momento da ovoposição, quando poros ou trincas nesses possibilitam a entrada do patógeno: todavia também é possível haver a contaminação transovariana (RABSCH *et al.*, 2000). Considera-se como práticas de risco o armazenamento de ovos e ou alimentos produzidos com estes à temperatura ambiente e o cozimento inadequado dos alimentos. A manipulação incorreta dos alimentos favorece a multiplicação bacteriana e, por conseguinte, o aumento do número de bactérias a serem ingeridas, favorecendo a ocorrência da infecção.

2.8 Medidas de prevenção e controle

Os programas de prevenção e controle têm como objetivo evitar a transmissão horizontal e vertical da bactéria (BERCHIERI J. A., 2000). A biossegurança e o manejo sanitário constituem importantes itens de programas de prevenção da presença de *Salmonella* no ambiente, esses contemplam várias medidas coordenadas e aplicadas simultaneamente.

O risco de transmissão vertical pode ser minimizado pela monitoria dos lotes de matrizes testados por métodos bacteriológicos e sorológicos. Outras medidas de grande importância devem ser tomadas, como: eliminar os animais positivos (evitar o estado portador), evitar a incubação de ovos trincados e/ou sujos, aquisição de linhagens mais resistentes, aplicação de método de limpeza e desinfecção dos galpões utilizando desinfetantes químicos. Também, é necessário instituir um programa de controle de vetores, roedores e aves silvestres, por esses serem possíveis fontes de transmissão da bactéria.

Na transmissão horizontal das salmonelas as aves se infectam, principalmente, por via oral, portanto acredita-se que o alimento seja uma importante fonte de contaminação. As rações e suas matérias primas, especialmente as de origem animal, podem apresentar altas taxas de contaminação por *Salmonella* (SILVA; DUARTE, 2002). Atualmente, procedimentos específicos como a peletização e adição de ácidos orgânicos visam o controle das salmonelas em rações. A peletização é realizada com temperatura superior a 60°C, esse processo deve eliminar a salmonela presente, desde que não ocorra recontaminação durante o processo. A monitoria microbiológica da ração e dos insumos de origem animal, bem como do ambiente em que as aves são criadas, paralelamente ao controle de infecção nos plantéis de reprodutores, seja por PCR ou por métodos tradicionais, são essenciais para evitar a disseminação do agente nos plantéis. Além disso, devem ser reforçadas as recomendações tradicionais, como: o confinamento total, a proteção ambiental, a lavagem, a desinfecção e o vazio sanitário dos aviários.

A vacinação é uma medida muito utilizada para a profilaxia de aves suscetíveis nas agroindústrias do país. A instrução normativa nº78 do MAPA (BRASIL, 2003) aprova o uso de vacina inativada em estabelecimentos matrizeiros com intuito de reduzir a infecção por *S. Enteritidis*. Esta, também, faculta o uso de vacinas autógenas desde que obedeça à legislação vigente. Todavia, em estabelecimento avoseiros, bisavoseiros e em granjas de seleção genética de reprodutoras primárias (linhas puras) está vedado o uso de qualquer tipo de vacina contra salmonelas. Em alguns países, já está sendo avaliado o uso de vacinas comerciais bivalentes para *S. Enteritidis* e para *S. Typhimurium* (DEGUCHI *et al.*, 2009).

2.9 Imunidade para *Salmonella* sp.

A imunidade mediada por células é muito importante para que se obtenha a efetiva proteção contra salmonela (VAN IMMERSEEL *et al.*, 2005). As salmonelas têm como característica sobreviver no interior da célula do hospedeiro, desse modo, a imunidade celular é fundamental, visto que a resposta humoral sozinha não é capaz debelar a infecção intracelular.

A imunoglobulina A (IgA), polimorfonucleares, macrófagos e monócitos associados à mucosa, constituem na primeira linha de defesa contra infecções causadas por *S. Enteritidis*

(SHEELA *et al.*, 2003) . A produção de IgA limita a colonização da mucosa intestinal por aderência, evitando, dessa forma, a invasão e a multiplicação intestinal.

Segundo OKAMURA *et al.* (2004), o uso de vacinas contendo cepas inativadas de salmonela estimula a produção de interleucinas, tais como IL-1, IL-6, IL-8 e de interferon- γ (INF- γ). O INF- γ ativa os macrófagos e aumenta a capacidade de destruir os microorganismos (TIZARD, 2002). Os macrófagos ativados pelo INF- γ catalisam a produção de óxido nítrico, esse, por sua vez, é tóxico para muitas bactérias, especialmente as que residem dentro de macrófagos, como *Salmonella* e *Listeria*.

2.10 Vacina inativada

O objetivo da vacinação contra as salmonelas é impedir que haja a aderência da bactéria na mucosa intestinal, sua multiplicação no organismo animal e evitar a sua excreção para o ambiente, além de prevenir a colonização de órgãos, tais como o fígado, o baço e os ovários. Uma vacina efetiva deve conferir um nível de proteção à colonização intestinal e sistêmica (NETO *et al.*, 2008), além de reduzir a contaminação ambiental e dos ovos.

As vacinas inativadas para *S. Enteritidis* são utilizadas em muitos países (WOODWARD *et al.*, 2002), todavia em alguns, somente é permitido uso em poedeiras comerciais (NETO *et al.*, 2008). Esse é o caso do Brasil, cuja legislação vigente permite somente o uso de bacterinas em matrizes comerciais. As bacterinas são vacinas que contém bactérias mortas, geralmente utilizam adjuvante oleoso ou de hidróxido de alumínio em sua formulação e produzem forte reação local. O uso destas vacinas é exclusivo por via parenteral -intramuscular ou subcutâneo- produzindo estímulo à imunidade humoral: devido ao tempo hábil para a formação de anticorpos as aves só estarão efetivamente protegidas aproximadamente três a quatro semanas após a vacinação (CARDOSO; ROCHA, 2006). A imunidade produzida por esse tipo de vacina possui duração relativamente curta (TIZARD, 2002) se comparada à imunidade conferida por vacinas vivas. Os estudos sobre a eficácia das bacterinas em aves para o controle das salmoneloses é extremamente necessário, visto que as vacinas vivas não são liberadas em nosso país pelo risco de reversão de virulência (DE BUCK *et al.*, 2004) ou pela possibilidade de causar imunossupressão nas aves vacinadas (HOLT 1995).

A imunidade produzida pela vacina inativada é específica, ou seja, os anticorpos formados conferem proteção somente contra o sorovar que a vacina contém (CARDOSO; ROCHA, 2006). A progênie das aves imunizadas com bacterinas está protegida nos primeiros dias contra as infecções sistêmicas, pois há passagem de anticorpos via gema.

Respostas imunes para *Salmonella* dependem do sorotipo, do hospedeiro infectado e da formulação da bacterina utilizada. Segundo, TIMMIS *et al.* (1990) aves imunizadas com bacterina contendo cepa de *S. Enteritidis* em emulsão oleosa e inativada por formalina apresentaram redução da apresentação de sinais clínicos, diminuição da mortalidade e redução da lesão em órgãos, quando comparada às aves do grupo controle, sendo que ambos os grupos foram desafiados por cepas de *S. Enteritidis*. Entretanto, alguns inconvenientes foram apontados em outras pesquisas, advindos da utilização de vacina inativada para *S. Enteritidis*, como o fato desta requerer aplicação individual e a ocorrência de reação local causada pelo adjuvante vacinal (NETO *et al.*, 2008).

Os níveis de proteção dependem do desafio, da via de administração, da dose administrada, da idade, da espécie e da linhagem da ave (NETO *et al.*, 2008). As vacinas inativadas para o controle de salmonelas paratíficas têm apresentado um sucesso variável, pois conferem proteção por cerca de metade da vida produtiva da ave (CARDOSO; ROCHA, 2006). Há também variação entre os produtos disponíveis no mercado, portanto o controle está atrelado a uma série de fatores. Dessa forma, é difícil comparar a eficácia de vacinas comerciais de forma precisa (NETO *et al.*, 2008). As possíveis variações encontradas em resultados de qualidade e eficácia das bacterinas se devem ao tipo e a composição do adjuvante utilizado no preparo, à cepa de *S. Enteritidis* utilizada e ao procedimento de inativação (NETO *et al.*, 2008). Entretanto, outros fatores também podem contribuir nas falhas vacinais, tais como: as condições ambientais desfavoráveis, falta de higiene, fatores estressantes e deficientes práticas de manejo (FILHO *et al.*, 2009).

A resistência à colonização intestinal por *Salmonella* depende, principalmente, da resposta humoral, especialmente das Ig A e células polimorfonucleares. Portanto, o critério para uma vacina ideal é promover a proteção das mucosas e, também, sistêmica das aves submetidas ao desafio, estimulando a resposta imune contra o agente infeccioso. Alguns autores acreditam que a bacterina contra *S. Enteritidis* induz uma boa resposta humoral, reduzindo a colonização intestinal (BABU *et al.*, 2004; NETO *et al.*, 2008), além de contribuir com a diminuição da excreção do patógeno nas fezes, com o decréscimo da colonização dos demais órgãos (ovários e fígado) e com uma menor contaminação de ovos (NETO, *et al.*, 2008), reduzindo, dessa forma, os níveis de contaminação ambiental. A

vacinação de poedeiras e matrizes contribui significativamente para a diminuição da contaminação por *Salmonella* na indústria de ovos e nas plantas de abates (COLLARD *et al.*, 2008).

A vacina oleosa inativada contra *S. Enteritidis* reduz a eliminação fecal após o desafio: em aves vacinadas 58% das amostras fecais eram positivas, enquanto em aves não vacinadas 81% das amostras eram positivas (GAST *et al.*, 1993). Em outro estudo, utilizando bacterinas comercial contra *S. Enteritidis* fagotipo 4, desafiando as aves por via endovenosa, verificou-se o isolamento de 12% de ovos positivos, em relação a 39% de ovos positivos no grupo controle (WOODWARD *et al.*, 2002). Os ovos se contaminam com *Salmonella* por contato com material fecal presente na cloaca, embora também possa ocorrer a contaminação transovariana (NETO *et al.* 2008).

O ceco é o principal local de multiplicação da *S. Enteritidis* no intestino das aves, enquanto que o baço e o fígado constituem-se nos órgãos não intestinais onde a bactéria pode ser encontrada. De acordo com NAKAMURA *et al.* (1994), após a imunização de poedeiras comerciais com bacterinas contra *S. Enteritidis*, verificou-se, uma semana após o desafio, um menor número de isolamentos deste agente no fígado e no baço das aves vacinadas em relação ao grupo controle. Apesar das bacterinas não eliminarem completamente a infecção por *S. Enteritidis* nas aves foi possível observar uma significativa redução da excreção desses patógenos para o ambiente. A diminuição da contaminação dos ovos é de relevância para a saúde pública, pois esses constituem a principal via de transmissão de salmonela para o homem (BABU *et al.*, 2004)

Contudo, ao compararmos as bacterinas com as vacinas vivas atenuadas, observa-se que as vacinas vivas são mais efetivas no controle de *S. Enteritidis* em aves jovens (BABU *et al.*, 2004). Estas podem conferir proteção durante toda a vida produtiva das aves, porque induzem uma melhor resposta humoral (MASTROENI *et al.*, 2000), entretanto há riscos inerentes a sua utilização.

Em contrapartida, as bacterinas não promovem a total resposta imune (FILHO *et al.*, 2009), contudo são mais seguras, visto que não há riscos de reversão de virulência ou de imunossupressão. Além disso, está comprovado que as bacterinas reduzem a duração e a severidade da infecção e auxiliam na prevenção de reinfecções (GAST, 2007). Dessa forma, pode-se concluir que o uso de bacterinas contribuiu para a diminuição da contaminação ambiental, reduzindo assim os níveis de transmissão horizontal dentro dos lotes.

3 DISCUSSÃO

Entre as doenças bacterianas de importância na avicultura, a salmonelose configura como uma das mais importantes e mais difíceis de instituir um controle eficaz. Muitas medidas preventivas são tomadas a fim de evitar a contaminação dos lotes, sendo que a vacinação surgiu como uma importante ferramenta para a prevenção dessa infecção ainda no campo. A vacina ideal deve prevenir a infecção intestinal e sistêmica, evitando assim a disseminação da bactéria para os órgãos e reduzindo a eliminação dessa através das fezes e dos ovos, além de induzir uma resposta mediada por células e anticorpos (VAN IMMERSSEL *et al.*, 2005).

Inicialmente, as vacinas contra salmonela foram utilizadas para o controle dos quadros de pulrose e de tifo aviário. Eram utilizadas vacinas vivas contendo uma cepa rugosa de *S. Gallinarum* de baixa patogenicidade. Entretanto, o uso exclusivo da vacinação como ferramenta para exclusão desses sorovares do campo não surtiu efeito positivo, sendo necessário associar também outras medidas preventivas. Com a utilização das novas práticas manejo sanitário, em especial uma monitoria ativa dos lotes, tornou-se, então, possível a eliminação desses agentes da avicultura comercial.

Atualmente, o controle das salmonelose está focado, principalmente, nas salmonelas paratíficas devido a sua importância para a saúde pública. A *S. Enteritidis* é um dos principais agentes responsáveis pela toxinfecção alimentar em humanos e tem sido associada a alimentos de origem avícola (NETO *et al.*, 2008). Desde 2003, a legislação brasileira permite o uso de bacterinas para a prevenção de *S. Enteritidis* em estabelecimentos matrizeiros, a meta é eliminar esse agente infeccioso. Entretanto, a *S. Enteritidis* dificilmente será eliminada por completo dos plantéis avícolas, visto que é facilmente reintroduzida. Pois, o sorovar *Enteritidis* possui inúmeros hospedeiros viáveis e uma etiologia complexa, fatores os quais favorecem a reinfecção dos plantéis, diferentemente ao ocorrido com os sorovares *Gallinarum* e *Pullorum*.

Os resultados a respeito da proteção das bacterinas contra o sorovar *Enteritidis* são variados em muitos estudos. As investigações a respeito da eficácia de vacinas na proteção das aves contra *S. Enteritidis* devem estar baseadas em análises sorológicas e na pesquisa de anticorpos no soro de aves vacinadas e infectadas experimentalmente (BABU *et al.*, 2004), bem como na contagem da bactéria nos principais órgãos envolvidos na infecção, além dos ovos e das fezes (WOODWARD *et al.*, 2002; BABU *et al.*, 2004). Seguindo esses conceitos,

o estudo de NETO *et al.* (2008), comparou a utilização de três bacterinas comerciais em grupos de aves infectadas experimentalmente por *S. Enteritidis*, após a aplicação das vacinas inativadas, concluindo que é possível reduzir a excreção de *S. Enteritidis* com a utilização de bacterinas comerciais. Ainda nesse estudo, poucos desses microorganismos foram encontrados no fígado e no baço dos animais, não havendo diferença significativa entre as aves vacinadas e não vacinadas. Em contrapartida, os efeitos da vacina inativada para a prevenção da colonização dos órgãos por *S. Enteritidis* foram demonstrados na pesquisa realizadas por NAKAMURA *et al.* (1994). Também houve o declínio das infecções em humanos após o uso da vacina inativada contra *S. Enteritidis* em aves (RABSCH *et al.*, 2000), devido a redução da contaminação das carcaças e dos ovos em animais imunizados.

Além disso, um dos benefícios das vacinas inativadas é a redução da mortalidade de pintos, pois houve uma diminuição dos casos de onfalite. Visto que as bacterinas conferem uma proteção da progênie contra infecções sistêmicas nos três primeiros dias de vida, desde que haja anticorpos suficientes para bloquear a passagem da salmonela para os órgãos (CARDOSO; ROCHA, 2006). A proteção obtida por meio das vacinas inativadas normalmente só é mantida até a metade do período de produção da ave, portanto dependendo das condições sanitárias do lote, pode ocorrer recontaminação e detecção de salmonelas no final do período de produção (CARDOSO; ROCHA, 2006).

Considerando os fatos analisados, medidas de biossegurança aliadas a práticas de prevenção, como o uso das bacterinas, são formas eficazes para reduzir a contaminação dos lotes. Por conseguinte, é importante salientar, que a vacina inativada deve ser adotada como medida complementar a boas práticas de manejo, limpeza e desinfecção.

4 CONCLUSÃO

As bactérias do gênero *Salmonella* são as principais responsáveis pela manifestação de doenças infecciosas alimentares no homem. Dados do *Center of Diseases Control* (CDC, 2010), dos Estados Unidos, revelaram que na Europa, nos três primeiros anos dessa década, mais de 250 mil pessoas foram infectadas por *Salmonella*, sendo que 30% destes casos foram caracterizados pela presença de *S. Enteritidis*, considerado o sorovar mais prevalente nos casos humanos na Europa.

S. Enteritidis é um agente muito resistente no meio ambiente, possui um elevado número de hospedeiros e uma grande facilidade de multiplicação. Portanto, sua eliminação é uma tarefa que exige o envolvimento de todos os elos da cadeia produtiva. A imunização das aves surgiu como uma alternativa viável para o controle da salmonelose, através do uso de vacinas inativadas, as quais são permitidas no Brasil. Segundo estudos citados no presente trabalho, concluiu-se que as bacterinas reduzem a colonização dos órgãos internos e a excreção da bactéria nas fezes. O uso de bacterinas em poedeiras reduz a possibilidade da produção de ovos contaminados e, conseqüentemente, a contaminação de humanos. Portanto, as bacterinas têm como principal benefício a redução da contaminação ambiental por *S. Enteritidis*. Porém, a imunização não invalida a eliminação do agente para o ambiente, uma vez que as aves ainda podem excretar menores quantidades da bactéria nas fezes.

Tendo em vista a complexa epidemiologia da salmonela, atualmente, é economicamente impraticável sua eliminação por completo das granjas comerciais. Contudo, estabelecer um padrão imunitário nas aves é, sem dúvida, uma das formas mais eficientes de se obter o controle das infecções causadas por esse patógeno. Entretanto, a vacinação não é a única medida de prevenção a ser tomada, essa deve estar associada a outras práticas de manejo, de biossegurança, além da aquisição de lotes livres e do controle das matérias primas. É importante ressaltar, que a vacina é apenas mais uma ferramenta auxiliar e que o sucesso no controle das salmoneloses só será atingido por meio de uma série de ações e medidas conjuntas.

REFERÊNCIAS

ABEF. Disponível em: <<http://www.abef.com.br>>. Acesso em: 01 mai. 2010.

BABU, U. *et al.* *Salmonella* Enteritidis clearance and responses in chickens following *Salmonella* vaccination and challenge. **Veterinary Immunology Immunophatology**, v. 101, p. 251-257, 2004.

BAUMLER, A.J., HARGIS, B.M., TSOLIS R.M. Tracing the origins of *Salmonella* outbreaks. **Science**, n. 287, p. 50-52, 2000.

BETANCOR L. *et al.*, An attenuated *Salmonella* Enteritidis strain derivative of the main genotype circulation in Uruguay is an effective vaccine for chickens. **Veterinary microbiology**, v. 107, p. 81-89, 2005.

BERCHIERI J. A., Salmoneloses aviárias. BERCHIERI J, A.; MACARI, M. (Ed.). **Doenças das aves**. Campinas: Facta, p. 185-195, 2000.

BRASIL. Programa Nacional de Sanidade Avícola. Atos legais. Portaria nº 126, de 03 de novembro de 1995- Normas de credenciamento e Monitoramento de Laboratório de Diagnóstico das Salmoneloses Aviárias (*S. enteritidis*, *S. Gallinarum*, *S. Pullorum* e *S. Typhimurium*). **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 6 nov.1995, Seção 1, p. 17694.

BRASIL. Programa Nacional de Sanidade Avícola. Atos legais. Instrução normativa nº78, 3 de novembro de 2003. Normas técnicas para controle e certificação de núcleos e estabelecimentos avícolas como livres de *Salmonella* Gallinarum e de *Salmonella* Pullorum e livres ou controlados para *Salmonella* Enteritidis e para *Salmonella* Typhimurium. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 5 nov. 2003, Seção 1, p. 03.

CARDOSO, B., ROCHA, L. C. Controle de salmonelas em avicultura através do uso de vacinas. V **Simpósio de Sanidade Avícola da UFSM**, Santa Maria, 10 e 11 ago, 2006.

CARTER, M.E., DEWES, H.B., GRIFFITHS, O.V. Salmonellosis in foals. **Journal of Equine Medicine and Surgery**, p. 78-83, 1979.

CDC. Disponível em: <<http://www.cdc.gov>>. Acesso em: 24 mai. 2010.

CLARK, R.C.; GYLES, CL. *Salmonella*. In: GYLES, CL.; CHARLES, O.T. **Pathology Bacterial Infection Animal**. 2. ed. Ames: Iowa State University, p. 133-153.

COLLARD, J.M. *et al.* Drastic decrease of *Salmonella* Enteritidis isolated from humans in Belgium in 2005, shift in phage types and influence on foodborne outbreaks. **Epidemiology and Infection**, v. 136, p. 771-781, 2008.

DE BUCK, J. *et al.* Colonization of the chicken reproductive tract and egg contamination by *Salmonella*. **Journal of Applied Microbiology**. Oxford, v. 97, n. 2, p. 233-245, 2004.

DEGUCHI, K. *et al.* Efficacy of a novel trivalent inactivated vaccine against the shedding of *Salmonella* in a chicken challenge model. **Avian Diseases**, v. 53, p. 281-286, 2009.

DESIN, S. *et al.* *Salmonella enterica* serovar Enteritidis pathogenicity island 1 is not essential for but facilitates rapid systemic spread in chickens. **Infection and immunity**, v. 77, n. 7, p. 2866- 2875, 2009.

FILHO, R. A. C. P. *et al.* Efficacy of several vaccination programmes in commercial layer and broiler breeder hens against experimental challenge with *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. **Avian Pathology**, v. 38, p. 367-375, 2009.

FINLAY, B.B.; FALKOW, S. Common themes in microbial pathogenicity. **Microbiology Review**, Washington, v. 53, n. 2, p. 210-230, 1989.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. (Ed.). **Microbiologia alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. p. 181.

GAST, R.K. *et al.* Evaluation of the efficacy of oil emulsion bacterin for protecting chickens against *Salmonella* Enteritidis. **Avian Diseases**, v. 36, p. 992-999, 1992.

GAST, R.K.; STONE, H. D.; HOLT, P. S. Evaluation of the efficacy of the oil-emulsion bacterins for reducing fecal shedding of *Salmonella* Enteritidis by laying hens. **Avian Diseases**, v. 37, p.1085-1091, 1993.

GAST, R.K. *et al.* Invited Review. Serotype-specific and serotypeindependent strategies for preharvest control of food-borne *Salmonella* in poultry. **Avian Diseases**, v. 51, p. 817-828, 2008.

HUMPHREY, T.J., LANNING, D.G. The vertical transmission of salmonellas and formic acid treatment of chicken feed. A possible strategy for control. **Epidemiology and infection**, v. 100, p. 43-49, 1988.

HOLT, J.G. *et al.* **Bergey's manual of determinate bacteriology**, 9th ed. Williams & Wilkins, p. 186-187, 1994.

LAX, A.J. *et al.* Current perspectives in salmonellosis. British. **Veterinary Journal**, London, v. 154, n. 4, p. 351-337, 1995.

MONTVILLE, T.J.; MATTHEWS, K.L. *Salmonella* Species. In: MONTVILLE, T.J.; MATTHEWS, K.L. **Food Microbiology – An Introduction**. Washington: ASM Press, p. 97-112, 2008.

MASTROENI, P. *et al.* *Salmonella*: immune responses and vaccines. **The Veterinary Journal**, v. 161, p. 132-164, 2000.

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

NAKAMURA, M. *et al.* Evaluation of the efficacy of a bacterin against *Salmonella* Enteritidis infection and the effect of stress after vaccination. **Avian Diseases**, v. 38, n. 4, p. 717-724, 1994.

NETO, O. C. F. *et al.* Controlo f *Salmonella* Enterica serovar Enteritidis in laying hens by inactivated *Salmonella* Enteritidis vaccines. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, p. 390-396, 2008.

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

OLH, M.E.; MILLER, S.I. *Salmonella*: A model for bacterial. **Annual Review Medical**, v. 52, p. 259-274, 2001.

OKAMURA, M. *et al.* Cell-mediated immune responses to a killed *Salmonella* enteritidis vaccine: lymphocyte proliferation, T-cell changes and interleukin-6 (IL-6), IL-1, IL-2, and IFN-gamma. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious diseases**, Oxford, v. 4, n. 2, p. 255-272, 2004.

POPOFF, M.Y.; BOCKEMUHL, J.; GHEESLING, L.L. **Research in Microbiology**, v. 154, n. 3, p. 173-174, 2003.

QUINN, P.J *et al.*(ED.) **Microbiologia veterinária**. Porto Alegre: Artmed, 2005, p. 115-130.

RABSCH, W. *et al.* Competitive exclusion of *Salmonella* Enteritidis by *Salmonella* Gallinarum in poltry. **Emerging infectious diseases**, v. 6, n. 5, 2000.

SALYERS A.A., WHITT, D.D (Ed.). **Bacterial pathogenesis**, ASM Press, Washington, p. 229-243, 1994.

SCHWARTZ, K.J. Salmonellosis. STRAW, B.E.; D'ALLAIRES, S.; MENGELING, W.L. *et al* (Ed.). **Diseases of Swine**. Ames: Iowa State University Press, v. 39, p. 535-551, 2000.

SESTI, L. Biosseguridade em granjas de frangos de corte: conceitos e princípios gerais. **Simpósio Brasil Sul de Avicultura**. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, p. 55-72, 2004.
SILVA E. N.; DUARTE A. *Salmonella* Enteritidis em aves: retrospectiva no Brasil. **Revista brasileira de ciência avícola**. Campinas, v. 4, n. 2, 2002

SHEELA, R. R. *at al.* Immune responses against *Salmonella enterica* serovar Enteritidis infection in virally immunosupressed chickens. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, Washington, p. 670- 679, 2003.

SHELOBOLINA, E.S.; SULLIVAN, S.A.; O'NEILL, K.R. *et al.* 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**, v. 70, n. 5, p. 2959-2965, 2004.

TIZARD, I. R. (Ed.) **Imunologia veterinária: uma introdução**. São Paulo: Roca. p. 147, 294, 2002.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. (Ed.) **Microbiologia**, 6^a ed. Porto alegre: Artmed, p. 302, 2002.

VAN IMMERSEL, F. *et al.* Vaccination and early protection against non-host-specific *Salmonella* serotypes in poultry: exploitation of innate immunity and microbial activity. **Epidemiology Infection**. Cambridge, v. 133, n. 6, p. 959-978, 2005.

WOODWARD, M. J. *et al.* The efficacy of Salenvac, a *Salmonella enterica* subsp. Enterica serotype Enteritidis iron-restricted bacterin vaccine, in laying chickens. **Avian Pathology**. V. 31, p. 383- 392, 2002.