

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**AVALIAÇÃO DO BENEFÍCIO NA PROGÊNIE PELO USO DE VACINA  
OLEOSA PARA *SALMONELLA* ENTERITIDIS EM AVES MATRIZES  
PESADAS**

Dissertação de Mestrado

Artur Valerio Cony

PORTO ALEGRE

2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**AVALIAÇÃO DO BENEFÍCIO NA PROGÊNIE PELO USO DE VACINA  
OLEOSA PARA SALMONELLA ENTERITIDIS EM AVES MATRIZES  
PESADAS**

Autor: Artur Valerio Cony  
Dissertação apresentada como  
requisito parcial para obtenção do  
grau de Mestre em Ciências  
Veterinárias na área de Sanidade  
Avícola  
Orientador: Vladimir Pinheiro do  
Nascimento

PORTO ALEGRE

2012

### CIP - Catalogação na Publicação

Cony, Artur Valerio

Avaliação do benefício na progênie pelo uso de vacina oleosa para Salmonella Enteritidis em aves matrizes pesadas. / Artur Valerio Cony. -- 2012. 70 f.

Orientador: Vladimir Pinheiro do Nascimento.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, BR-RS, 2012.

1. Medicina veterinária preventiva: aves . 2. Avicultura. 3. Sanidade avícola. 4. Salmonella Enteritidis. 5. Vacinação. I. Nascimento, Vladimir Pinheiro do, orient. II. Título.

Artur Valerio Cony

AVALIAÇÃO DO BENEFÍCIO NA PROGÊNIE PELO USO DE VACINA OLEOSA  
PARA SALMONELLA ENTERITIDIS EM AVES MATRIZES PESADAS

Aprovada em 20 de março de 2012.

APROVADO POR:

---

Prof. Dr. Vladimir Pinheiro do Nascimento  
Orientador e Presidente da Comissão

---

Prof. Dr. Hamilton Luiz de Souza Moraes  
Membro da Comissão

---

Prof. Dr. Guilherme Fonseca de Souza  
Membro da Comissão

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Rosecler Alves Pereira  
Membro da Comissão

À minha filha Isadora Benini Cony.

## AGRADECIMENTOS

Ao Grande Arquiteto do Universo que me deu a vida.

Aos meus pais, Huldo Cabral Cony Filho também Médico Veterinário e Ana Maria Garcez Valerio, por terem me dado a educação, exemplos de retidão e o amor incondicional durante minha formação pessoal e que, continuam a me dar exemplos.

À minha esposa Ivanete Benini que me deu o presente mais lindo de minha vida, minha filha, Isadora Benini Cony que encheu de alegria nosso lar. Além de ter me incentivado durante todo o período que precisei me dedicar aos estudos.

Ao meu avô Huldo Cabral Cony, Médico Veterinário por ser o mentor de, pelo menos, três gerações desses profissionais na família, confirmando aquele antigo dito popular de que “os frutos não caem longe do pé...”

Ao meu orientador, professor Dr. Vladimir Pinheiro do Nascimento, pessoa que tenho procurado me espelhar ao longo desses anos e principalmente, pela confiança depositada em mim, pelos ensinamentos e paciência.

À minha amiga e colega Amarílis Diaz, parceira nesta trajetória que muitas vezes me ajudou durante as aulas e na elaboração desta dissertação.

À minha amiga e colega Débora da Cruz Payão Pellegrini, pela importante ajuda nas análises estatísticas.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul pelo ensino de qualidade, ao qual formou Médicos Veterinários meu Avô Huldo Cabral Cony e também professor aposentado desta universidade, meu pai Huldo Cabral Cony Filho e meu Padrinho, José Berilo dos Santos Cony (em memória).

Ao Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Patologia Aviária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (CDPA/UFRGS).

À secretaria do programa de Pós Graduação da UFRGS, em especial a Sra. Maria.

A todos que de uma forma ou outra contribuíram para a execução deste trabalho.

A todos vocês, meu muito obrigado.

## RESUMO

Com o aumento, a cada ano, dos alojamentos na cadeia de produção avícola, a disseminação de doenças ficou facilitada. Nos lotes de aves, a fase inicial tem principal importância no que tange à contaminação por *Salmonella* Enteritidis, devido a maior sensibilidade às infecções pela ausência de uma flora intestinal completa e a imaturidade do sistema imune. Avaliaram-se, neste estudo, os benefícios na progênie do uso de uma vacina inativada em adjuvante oleoso para *Salmonella* Enteritidis, em matrizes pesadas, através de coleta de ovos bicados e pintos natimortos no incubatório, bem como suabes de arrasto nos aviários de frangos de corte. Observou-se que a imunização das matrizes conferiu uma proteção para suas progênies, tanto em ovos bicados, pintos natimortos coletados no incubatório no dia do nascimento, bem como em granjas de frango de corte, onde foram coletados suabes de arrasto entre 21 e 30 dias. Em ovos bicados foram analisadas 850 amostras, sendo que nos lotes vacinados tiveram 10 amostras (1,18%) positivas, e, nos lotes não vacinados tiveram 288 amostras (33,88%) positivas. Em pintos natimortos foram analisados 850 amostras, sendo os lotes vacinados tiveram 16 amostras (1,88%) positivas e nos lotes não vacinados tiveram 210 amostras positivas (24,70%). Em suabe de arrasto, nas granjas de frangos de corte, foram analisadas 502 amostras para lotes não vacinados; sendo 22 amostras positivas (4,38%). Nos lotes vacinados foram analisados 475 amostras, sendo 6 amostras positivas (1,26%). Os resultados obtidos nos levam a concluir que a vacina de *Salmonella* Enteritidis inativada em adjuvante oleoso, propicia uma imunidade passiva para as progênies das matrizes de corte que foram vacinadas, proporcionando uma redução significativa a infecções precoces pela bactéria.

**PALAVRAS CHAVES:** *Salmonella* Enteritidis, aves, vacinação, imunidade, incubatório, granjas de frango de corte.



## ABSTRACT

*With the increase of households in the poultry production chain each year, the spread of diseases was facilitated. In lots of birds, the initial phase has primary importance regarding to contamination by Salmonella Enteritidis, due to a bigger sensitivity to the infections by the absence of a complete gut and the immaturity of the immune system. In this study it was evaluated, the benefits of using the progeny of an inactivated vaccine in oil adjuvant for Salmonella Enteritidis in the main weighted broilers, through collection of eggs pecked and hatchery stillbirth chicks, as well as drag swabs on poultry broiler. It was observed that immunization of matrices gave a protection to their progeny, both egg pecked, hatchery stillborn chicks collected on the day of birth, and in broiler farms, where the drag swabs were collected between 21 and 30 days. In pecked eggs were analyzed 850 samples, being that in the vaccinated lots 10 samples (1.18%) were positive and in non-vaccinated lots 288 samples (33.88%) were positive. In stillbirths chicks were analyzed 850 samples, and in the vaccinated lots were 16 samples (1.88%) positive and in the unvaccinated lots, 210 were positives samples (24.70%). In the drag swab in broiler farms, 502 samples were analyzed for non-vaccinated lots, with 22 positive samples (4.38%). In the vaccinated lots were analyzed 475 samples and six positive samples (1.26%). The results lead us to conclude that the Salmonella Enteritidis inactivated vaccine in oil adjuvant, provides passive immunity to the progeny of broiler breeder flocks were vaccinated, providing a significant reduction in early infections by bacteria.*

**Keywords:** *Salmonella enteritidis, birds, vaccination, immunity, hatchery, broiler farm.*

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Sorovares mais prevalentes em aves vivas e carcaças de frango no Brasil. .	32
Tabela 2 – Tabela de Contingência (2x2) – Material analisado: ovos bicados oriundos do incubatório de lotes não vacinados e vacinados para <i>Salmonella</i> Enteritidis. ....	49
Tabela 3 – Tabela de Contingência (2x2) – Material analisado: pintinhos natimortos provenientes do incubatório dos lotes não vacinados e vacinados para <i>Salmonella</i> Enteritidis. ....	50
Tabela 4 - Tabela de Contingência (2x2) – Material analisado: suabe de arrasto em aviários de frangos de corte dos lotes não vacinados e vacinados para <i>Salmonella</i> Enteritidis. ....	51
Tabela 5 – Material analisado: ovos bicados e pintinhos natimortos de aves não vacinadas e vacinadas para <i>Salmonella</i> Enteritidis em percentagem. ....	52
Tabela 6 – Material analisado: suabes de arrasto em lotes não vacinados e vacinados para <i>Salmonella</i> Enteritidis, percentual de lotes positivos. ....	53

## LISTA DE GRÁFICO

Gráfico 1 – Distribuição da infecção dos lotes de frangos de corte por <i>Salmonella</i> nos tratamentos 1 e 2.....	54
---	----

## **LISTA DE FIGURAS**

Figura 1 – Forma de trajeto de suabe de arrasto nos aviários em forma de X. .... 46

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

UBABEF: União Brasileira de Avicultura

EU: União Européia

SE: *Salmonella* Enteritidis

PNSA: Plano Nacional de Sanidade Avícola

MAPA: Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento

PRP: Programa de Redução de Patógenos

IN: Instrução Normativa

<sup>0</sup>C: Graus Celcius

H<sub>2</sub>S: Gás Sulfídrico

CDC – EUA: Center of Diseases Control and Prevention – Estados Unidos da América

UFC: Unidade Formadora de Colônias

%: Valor percentual

CDPA: Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Patologia Aviária

UFRGS: Universidade Federal do Rio Grande do Sul

CEVS/RS: Centro Estadual de Vigilância em Saúde do Rio Grande do Sul

BPF: Boas Práticas de Fabricação

APPCC: Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle

PO`s: Procedimentos Operacionais

l/m<sup>2</sup>: Litros por metro quadrado

mg: Miligramas

mL: mililitros

mm: milímetros

$\chi^2$ : Qui quadrado

®: Marca registrada

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>13</b>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>16</b>
<b>2.1. O gênero <i>Salmonella</i> .....</b>	<b>16</b>
<b>2.2 Classificação.....</b>	<b>16</b>
<b>2.3 Salmonelose nas aves.....</b>	<b>17</b>
<b>2.4 <i>Salmonella Enteritidis</i> .....</b>	<b>18</b>
<b>2.5 Patogenia .....</b>	<b>21</b>
<b>2.6 Saúde Pública.....</b>	<b>24</b>
<b>2.7 Controle.....</b>	<b>33</b>
<b>3. MATERIAL E MÉTODO .....</b>	<b>40</b>
<b>3.1 Descrição do local do experimento .....</b>	<b>40</b>
3.1.1 Empresa.....	40
<b>3.2 Delineamento experimental .....</b>	<b>41</b>
3.2.1 Matrizes de corte em produção .....	41
3.2.2 Estrutura .....	42
3.2.3 Manejo adotado nas granjas de matrizes em produção, quanto à biossegurança e manejo geral.....	42
3.2.4 Vacinação.....	45
3.2.5 Monitorias nas granjas de matrizes .....	45
<b>3.3 Incubatório.....</b>	<b>46</b>
3.3.1 Biossegurança .....	46
3.3.2 Monitorias para <i>Salmonella</i> .....	46
3.3.3 Incubação .....	47
3.3.4 Coleta dos ovos bicados e pintinhos natimortos .....	47
<b>3.4 Frangos de corte.....</b>	<b>47</b>
3.4.1 Coleta dos suabes de arrasto.....	47
<b>3.5 Análise estatística dos resultados.....</b>	<b>48</b>
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>49</b>
<b>5. CONCLUSÕES .....</b>	<b>57</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>58</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Dados recentes divulgados pela União Brasileira de Avicultura (UBABEF) mostram que as exportações brasileiras de carne de frango atingiram 2,239 milhões de toneladas entre janeiro e julho de 2011, 3,4% maior em relação ao mesmo período do ano anterior. Esse saldo representou receita de US\$ 4,669 bilhões nos sete primeiros meses deste ano, 24,3% acima dos US\$ 3,756 bilhões de 2010. Em relação ao mesmo mês de 2010, as exportações de julho registraram queda de 13,8% em volumes, com 310,8 mil toneladas, frente às 360,5 mil toneladas do ano anterior. Já em receita o resultado foi positivo, para crescimento de 3,8%, com total de US\$ 669 milhões no sétimo mês de 2011, e US\$ 644 milhões no ano passado (UBABEF, 2011). Este aumento é muito expressivo, sendo um importante fator de desenvolvimento econômico e social para o país.

Em 2010 alojou-se 46.803 milhões de cabeças de matrizes de corte. Em 2011 alojou-se 48.532 milhões de cabeças de matrizes de corte, um aumento de 3,69% do plantel brasileiro (<http://www.avisite.com.br/noticias/default.asp?codnoticia=12069>). A exportação de ovos férteis de matrizes de corte, em 2010, foi de 192.642 milhões de unidades: cerca de 11,48% a mais que 2009. Em 2011 a exportação de ovos férteis se manteve no mesmo patamar de 2010 (<http://www.avisite.com.br/noticias/default.asp?codnoticia=12234>).

As empresas produtoras de matrizes de corte buscam na produção de matrizes, ovos e conseqüentemente progênies de excelente qualidade, para uma boa incubação e o fornecimento de pintos saudáveis. As empresas buscam que seus plantéis estejam livres de *Salmonella* Enteritidis (SE); para isso, começaram a usar vacinas oleosas (inativadas) contra essa enfermidade, sendo esta uma das estratégias usadas para o controle de *Salmonella* Enteritidis. Tal vacina dá proteção para a matriz e, via vertical, para a progênie.

Entre as doenças que acometem as aves, tem especial importância aquelas que podem ser transmitidas para o homem, através de ovos e/ou carne. Baseado nesta informação, cada dia é mais importante estudos que visem prevenir estas doenças nos plantéis avícolas. A *Salmonella* aparece como um dos principais agentes causadores de infecção alimentar em humanos. A presença desta bactéria, na carne de frango, é uma importante barreira para exportações do produto, além de ser um risco potencial à saúde humana (BERCHIERI JUNIOR; MACARI, 2009). Também ocorre uma barreira nas

exportações de ovos férteis e, caso esses ovos estejam positivos para *Salmonella*, suas progênes nascerão positivas para esta enfermidade em qualquer lugar que estes ovos forem incubados, gerando um problema para o país que importou esses ovos e, conseqüentemente, um problema muito maior para a empresa que exportou.

Sabe-se que problemas sanitários, como SE, refletem direto no retorno econômico da atividade, pois ovos positivos serão descartados, não podendo ser incubados. Conforme o Plano Nacional de Sanidade Avícola (PNSA), granja positiva perde o credenciamento junto ao Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), como *Livre de SE*; não podendo exportar ovos e, conseqüentemente, tendo que eliminá-los até terminar o tratamento com antimicrobiano. O tratamento dura, no mínimo, uma semana e após este tratamento, nova coleta tem que ser feita para verificação se o lote se tornou negativo. Com isso a empresa terá significativos prejuízos econômicos.

O (PNSA), exige que os plantéis de Matrizes de corte estejam livres de *Salmonella Gallinarum* e *Salmonella Pullorum*, podendo ser controladas para *Salmonella Enteritidis* e *Salmonella Tiphymurium*. Os países para os quais exportamos ovos férteis de matrizes e, conseqüentemente, progênes (frangos de corte) exigem que as aves sejam livres das quatro *Salmonellas*.

O Brasil é um dos maiores produtores de carne de frango do mundo e, atualmente, o maior exportador. Por esta razão, foram feitas algumas exigências pelo mercado importador e pelo MAPA, no que tange às normas de biosseguridade das granjas e a liberação da vacina de SE, para matrizes de corte em novembro de 2003.

O MAPA, também sensibilizado pelas questões ligadas ao comércio exterior para países cujas exigências vão ao limite da tolerância zero de *Salmonella sp* em produtos cárneos, e, para o fornecimento de um alimento mais seguro para o consumidor brasileiro resolveu, no ano de 2003, propor conjuntamente com as empresas do setor avícola, a elaboração de um Plano que reduzisse a presença de *Salmonella sp* nos produtos avícolas. Em abril de 2004, iniciou-se o Programa de Redução de Patógenos (PRP) em carcaças de aves (frangos e perus), editada em outubro de 2003, conforme Instrução Normativa (IN) n<sup>o</sup> 70 (BRASIL, 2003b).

Para que a produção de ovos férteis de matrizes de corte e, conseqüentemente, que a produção de frangos de corte chegasse aos níveis que hoje se encontram, ocorreu uma expansão significativa da avicultura industrial em todo o mundo. Para esse crescimento aumentou-se o número de aves alojadas por metro quadrado, concentrando-



se mais aves em um menor espaço físico e diminuindo os vazios sanitários. O aumento na concentração de aves e a diminuição dos vazios sanitários geraram um maior risco de disseminação de doenças que, pode ser agravado se não houver boas práticas de biossegurança, que vai do manejo à sanidade.

Atualmente, a empresa que produzir matriz de melhor qualidade, mais resistente a desafios sanitários e pelo menor custo de produção, conseguirá mais ovos/pintainhos/saudáveis por ave alojada e terá, naturalmente, mais oportunidades no mercado nacional e internacional, minimizando custos e atendendo aos desafios da avicultura moderna.

As vacinas oleosas (inativadas) objetivam a proteção da matriz e conseqüentemente, da progênie. Tanto as matrizes, quanto as progênies ou frangos de corte, precisam ser livres de *Salmonella* Enteritidis para atender as exigências dos mercados internos e externos.

O trabalho tem por objetivo mostrar, através do uso de vacina oleosa (inativada) de *Salmonella* Enteritidis nas matrizes pesadas vacinadas com oito e 19 semanas, a diminuição da contaminação desta bactéria em suas progênies, através de ovos bicados, pintinhos natimortos e suabes de arrasto nas granjas de frangos de corte com idade entre 21 e 30 dias.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. O gênero *Salmonella*

O gênero *Salmonella* pertence à família *Enterobacteriaceae* (SNOEYENBOS, 1991), sendo composto por mais de 2.500 sorovares, baseado na reação bioquímica e sorológica (POPOFF e LE MINOR, 1992). Entre esses vários sorovares, cerca de 80 a 90 são mais comuns nos casos de infecções dos seres humanos e animais domésticos (JUNIOR e MACARI, 2000).

O gênero *Salmonella* está amplamente distribuído no ambiente em todo o mundo. Foi isolado e identificado pela primeira vez em 1885, por Daniel Elmer Salmon. Pertencente a família das enterobactérias, é um bacilo curto, Gram negativo, aeróbico e anaeróbico facultativo, não capsulado, não formador de esporo e móvel, com exceção dos sorovares *Salmonella Pullorum* e *Salmonella Gallinarum*, com flagelos peritríquios. A temperatura para ótimo crescimento é de 37<sup>0</sup>C, mas crescem entre 5 e 45<sup>0</sup>C. Crescem em pH entre 4 e 9, sendo 7 o pH ideal. Os membros deste gênero são oxidase negativas, catalase positivos, indol, uréase e Voges Proskauer negativos, vermelho de metila e citrato de Simmons positivos, lisina e ornitina descaboxilase positivos. A maioria dos sorovares produz gás sulfídrico (H<sub>2</sub>S). A glicose e outros carboidratos são metabolizados com produção de gás e ácido pela maioria dos sorovares. Normalmente são fermentadores de L-arabinose, D-sorbitol, maltose, D-manitol, D-manose, L-rhamnose, trehalose, e D-xylose, porém não fermentam a lactose e a sacarose (GAST, 1997; GAST, 2008).

### 2.2 Classificação

O gênero *salmonella* pode ser dividido em apenas duas espécies: *Salmonella entérica* e *Salmonella bongori*. A espécie *Salmonella entérica* é dividida em seis subespécies: *S. entérica* subespécie *entérica* (I), *S. entérica* subespécie *salamae* (II), *S. entérica* subespécie *arizonae* (IIIa), *S. entérica* subespécie *diarizonae* (IIIb), *S. enterica* subespécie *houtenae* (IV) e *S. entérica* subespécie *indica* (VI). Essas subespécies podem ser diferenciadas bioquimicamente ou por análise antigênica. Bactérias classificadas como *Salmonella entérica* subespécie *entérica* consistem em 99,5% dos micro-organismos isolados deste gênero (GRIMONT e WEILL, 2007).

Além da classificação em espécies e subespécies, existe a classificação das cepas em sorogrupos. A *Salmonella*, assim como outras enterobactérias, possui antígenos O (somáticos) e antígenos H (flagelares). Alguns grupos desta bactéria também possuem o antígeno Vi (capsular) (BRENNER *et al.*, 2000). Os antígenos O são polissacarídeos termoestáveis localizados na superfície da parede celular bacteriana, quando os antígenos H são constituídos por proteínas termolábeis, sendo algumas vezes produzidas em duas diferentes fases (1 e 2) (POPOFF e LE MINOR, 1997). As subespécies de *Salmonella* são divididas em 50 sorogrupos, classificadas com base no antígeno O. Os dois principais sorogrupos são o B e o D<sub>1</sub>. No grupo B estão os sorovares como *Salmonella* Typhimurium e *Salmonella* Heidelberg, enquanto que no grupo D<sub>1</sub> se destaca a *Salmonella* Enteritidis (POPOFF, 2001). Dentro dos sorogrupos, existe, ainda, a classificação de sorovares. Atualmente já foram identificados mais de 2.500 sorovares dentro do gênero *Salmonella*, sendo que cerca de 60% dos sorovares isolados de diferentes fontes pertencem à subespécie *entérica* (GRIMONT e WEILL, 2007; LIBBY *et al.*, 2008). Quando foram feitas as primeiras identificações de *Salmonella* spp; o nome do sorovar era escolhido com base no hospedeiro na qual ocorreu o primeiro isolamento. Conforme o *Center of Diseases Control and Prevention* (CDC – EUA), nas cepas isoladas atualmente, o nome do sorovar deve ser escolhido conforme a região geográfica em que foi isolado. Os sorovares também podem ser denominados através de sua fórmula antigênica: designação da subespécie (I a VI), antígenos O e antígenos H (BRENNER *et al.*, 2000).

### 2.3 Salmonelose nas aves

A *Salmonella* spp pode causar três doenças clínicas nas aves: Pulorose, Tifo e Paratifo aviário. A Pulorose é a doença causada pela *Salmonella* Pullorum, de ocorrência em aves jovens, com menos de três semanas de idade. A transmissão ocorre pela via horizontal (contato direto com aves portadoras, roedores, aves silvestres) ou pela via vertical transovariana e extragenital. A sintomatologia em aves jovens é caracterizada pela presença de uma diarreia pastosa, de coloração esbranquiçada e alta mortalidade, enquanto que as aves adultas são assintomáticas, podendo apresentar queda de postura de 30%. O Tifo é causado pela *Salmonella* Gallinarum, sendo mais comum em aves adultas. A transmissão ocorre principalmente pela via horizontal, através do contato de aves suscetíveis com aves portadoras, roedores e aves silvestres. O principal

sinal clínico é a presença de diarreia amarelo-esverdeada, e na necropsia observa-se uma coloração “bronzada” (marrom-esverdeada) do fígado (CHARLTON *et al.*, 2006; SHIVAPRASADI e BARROW, 2008; BERCHIERI JUNIOR e FREITAS NETO, 2009).

No passado, essas duas doenças representavam um grande problema para a indústria avícola, pois ocasionavam perdas econômicas nos plantéis avícolas, devido à perda de peso, às condenações no abate, ao aumento da mortalidade, entre outras. Com o aumento das medidas de controle e biosseguridade nos últimos anos, estes sorovares foram praticamente erradicados dos plantéis avícolas industrializados (SILVA e DUARTE, 2002; BERCHIERI JUNIOR e FREITAS NETO, 2009).

O Paratifo aviário é causado pelos sorovares de *Salmonella* que não são adaptados às aves, como *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium (GAST, 2008; BERCHIERI JUNIOR e FREITAS NETO, 2009). Estes sorovares são mais importantes em questões de saúde pública do que pelo impacto econômico que causam em plantéis acometidos (CHARLTON *et al.*, 2006). As aves jovens são mais susceptíveis, podendo apresentar uma sintomatologia semelhante àquela causada por *Salmonella* Pullorum. Assim como na Pulorose, as aves mais velhas são mais resistentes e geralmente são assintomáticas ou apresentam queda de postura em torno de 10%. Os sorovares causadores do Paratifo podem permanecer no trato digestivo das aves até o período do abate, contaminando o produto final. Nas aves poedeiras, a bactéria permanece no trato reprodutor, contaminando os ovos produzidos. Estes sorovares são os principais responsáveis pelas infecções alimentares em humanos (CHARLTON *et al.*, 2006; GAST, 2008; BERCHIERI JUNIOR e FREITAS NETO, 2009).

#### **2.4 *Salmonella* Enteritidis**

As salmoneloses aviárias, causadas pela *Salmonella* Enteritidis, situam-se dentro do grande grupo de salmoneloses que se convencionou chamar, em patologia aviária, de Paratíficas. Estas se tratam de doenças agudas ou crônicas das aves e de muitos outros animais (inclusive mamíferos). Podem ser causadas por qualquer uma das *salmonellas* do grande grupo das não-específicas, no caso das aves, outras que não a *Salmonella* Gallinarum ou *Salmonella* Pullorum” (NASCIMENTO e SANTOS, 2005).

A frequência e a variedade de espécies de aves infectadas, em diferentes localidades, sugerem que estas infecções por *Salmonella* não são discriminatórias,

apenas necessitando acesso aos microorganismos. Ratos e camundongos são óbvios portadores intestinais de *Salmonella* Typhimurium e *Salmonella* Enteritidis. Alguns vetores como moscas, besouros, baratas, pulgas e lagartos também são perigosos e sua presença em galpões, pode causar infecções em lotes sucessivos de aves desses galpões (REVOLETTTO, 2008).

Dentre todas as salmonelas Paratíficas, a *Salmonella* Enteritidis é foco de atenção há mais de uma década em vários países, por ser a principal causa de toxinfecção alimentar em humanos. Além de ter o potencial de causar doenças e mortalidade em aves jovens, a *Salmonella* Enteritidis é considerada uma das mais patogênicas para o homem. A partir da década de 80 na Europa, e, início da década de 90 no Brasil, a *Salmonella* Enteritidis tornou-se um dos sorotipos mais prevalentes em aves de corte e de postura. No início deste novo século, apesar de uma aparente redução, a *Salmonella* Enteritidis é o sorotipo prevalente em aves no Brasil e ainda preocupa (BACK, 2002).

Segundo Bernardo e Machado (1990), nos países europeus o isolamento de *Salmonella* Enteritidis tem aumentado consideravelmente nos últimos anos, levando a um estado de alerta.

Dentre os vários fagotipos de *Salmonella* Enteritidis existentes, o fagotipo quatro é o predominante em aves e é considerado um dos mais patogênicos para o homem; apesar de existir variação de patogenicidade entre diferentes amostras do fagotipo quatro. O fagotipo quatro, também é o mais encontrado nas análises realizadas no Brasil (BACK, 2002).

As aves domésticas constituem-se nos maiores reservatórios de salmonelas existentes na natureza. As salmonelas são mais freqüentemente relatadas em aves e produtos de origem aviária; particularmente devido à grande população em risco, e, das atividades dos programas nacionais para isolamento e identificação (SNOEYNBOS, 1991).

Uma vez infectado o lote, é muito difícil erradicar a *Salmonella* Enteritidis e a ave portadora permanece eliminando a bactéria para o resto da vida. Se algum ovo carrear a infecção para dentro do incubatório, este poderá ser fonte de infecção para centenas ou milhares de pintinhos. É muito importante manter os lotes livres da infecção. Em lotes positivos, algum sucesso foi obtido tratando-os com antibiótico por dez dias. No final do tratamento as aves devem ser transferidas para um ambiente livre de salmonela e deve ser administrada flora bacteriana, ou seja, exclusão competitiva

(MEAD e BARROW, 1990; METHNER e STEINBACK, 1997; METHNER *et al.*, 1999; MEAD, 2000; METHNER, BERNDT e STEINBACK, 2001; MOUNTLOURIC *et al.*, 2007)

Aves jovens que apresentam sinais clínicos e mortalidade podem ser tratadas com antibióticos, tais como: quinolonas gentamicina, estreptomicina, sulfas, sulfatrimetropim, tetraciclina, bacitracina de zinco, e neomicina. O emprego de antibióticos pode reduzir, mas não consegue eliminar totalmente a infecção em um lote de matrizes (BACK, 2010).

A mortalidade por *Salmonella* Enteritidis normalmente depende do ambiente, da cepa infectante e da presença de infecções intercorrentes. As mesmas são mais frequentes nas duas primeiras semanas de vida das aves. Nas aves com mais de quatro semanas, raramente causam mortalidade, permanecendo, no entanto, uma alta proporção de sobreviventes como portadores excretores assintomáticos. Se forem reprodutores, continuarão os ciclos de infecção, enquanto que, se forem frangos de corte, poderão infectar o ambiente de abate e processamento (NASCIMENTO, 1996c). Algumas empresas têm como procedimento operacional de “fermentar a cama” para posterior alojamento. Com isso, a infecção do ambiente (cama) diminui.

Lotes de frangos infectados introduzem salmonelas nas plantas de processamento, sendo o espectro dos sorotipos encontrados nas carcaças do comércio semelhante ao encontrado nos lotes nas granjas (NASCIMENTO e SANTOS, 2005)

Aceita-se que, pelo menos, algumas salmonelas podem produzir infecções no ovário e peritônio da poedeira, possibilitando assim, a contaminação dos conteúdos dos ovos antes da postura. A contaminação de cascas durante a postura, ou em ninhos, cama ou incubadoras contaminadas pós-postura são muito importantes; já que portadoras intestinais são comuns, por até 18 meses ou mais (NASCIMENTO e SANTOS, 2005).

Água contaminada pode servir como fonte de transmissão, bem como inalação de pó, contaminação fecal de ração e água e consumo direto de material fecal por aves jovens. Pode haver, ainda, transmissão direta para aves jovens, a partir de aves mais velhas que sejam portadoras crônicas e assintomáticas; bem como por fômites, como botas, sacos de ração, caixas, bandejas e equipamentos de cria. Rações contaminadas podem ser fonte comum e muito importante de salmonelas paratíficas. O número de microorganismos contaminantes é normalmente baixo, mas a ocorrência é alta (às vezes em mais de 50% das amostras avaliadas, 48,3% na proteína animal usada nos EUA, em 1986). Com essa larga distribuição, torna-se difícil controlar o problema, havendo

correlação direta entre: Salmonelas encontradas nas rações e salmonelas encontradas na cama dos animais que se alimentavam delas; igualmente entre Salmonelas isoladas de ingredientes das rações e aquelas isoladas de carcaças processadas; fezes de portadores infectados são as fontes mais comuns de infecções entre aves adultas, inclusive entre lotes contaminados, anteriormente, para novos lotes mantidos naqueles locais posteriormente perpetuando as infecções (NASCIMENTO e SANTOS, 2005).

## 2.5 Patogenia

Em aves podem ser consideradas três tipos de infecção por *Salmonella*. A primeira refere-se a sorotipos invasivos que provocam infecção do sistema retículo-endotelial, com pouco ou nenhum envolvimento intestinal. A segunda refere-se aos sorotipos com extensa colonização intestinal, por exemplo, *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium, que colonizam o trato entérico com excreção fecal e provocam doença sistêmica envolvendo o sistema retículo endotelial. E a terceira refere-se aos sorotipos não invasivos com extensa colonização intestinal (BARROW, 1995; ZHANG-BARBER, TURNER, BARROW, 1999).

Os micro-organismos patogênicos se distinguem de outros da mesma espécie por possuírem e expressarem genes que codificam os fatores de virulência (VIEIRA, 2009), que conferem à bactéria a habilidade de causar doença no seu hospedeiro (VAN ASTEN e VAN DIJK, 2005). Estes fatores propiciam a invasão e colonização das células do hospedeiro pelo micro-organismo, levando à ocorrência de uma série de eventos que levam ao aparecimento da doença. Estes fatores podem ser mecanismos de invasão, que interfiram na resposta imune do hospedeiro ou mecanismos de resistência a antimicrobianos (VIEIRA, 2009).

A patogenicidade das salmonelas depende de uma série de fatores associados à bactéria, às aves e às condições de criação. A associação e penetração da bactéria na mucosa digestiva é um fator determinante para a infecção sistêmica, onde outras células são invadidas (BARROW, 1995; RYCHLIK, LOVELL, BARROW, 1998). A multiplicação dependerá da cepa de *Salmonella* (SCHARR, 2003) e da resistência genética do hospedeiro (HORMAECHE *et al.*, 1993). Durante as infecções sistêmicas as salmonelas interagem com macrófagos e fagócitos polimorfonucleares, tendo a habilidade para se multiplicar dentro dessas células, um pré-requisito para virulência (MASTROENI, SKEPPER, HORMAECHE, 1995).

A invasão do epitélio intestinal ocorre via superfície apical onde a *Salmonella* induz a ruptura e o afastamento das microvilosidades, provocando a endocitose e migrando através da célula. Acredita-se que a invasão ocorra por um receptor mediador de endocitose, embora esses receptores não tenham sido identificados. A complexidade do mecanismo de invasão da *Salmonella* mostra sua alta capacidade de invadir diferentes tipos de células (FINLAY e FALKOW, 1989; LAX *et al.*, 1995; CHADFIELD *et al.*, 2003).

Segundo Hacker e Carniel (2001), a *Salmonella* spp encontra uma série de microambientes ao longo de seu processo de infecção, além da necessidade de sobreviver aos processos do sistema imune do hospedeiro. Para se adaptar a estas condições, a bactéria necessita de um grande número de genes. Os genes envolvidos nos processos de captação e/ou biossíntese de nutrientes, de resposta ao *stress* e de recuperação dos danos à célula bacteriana são chamados de *housekeeping genes*. Estes genes são necessários para a manutenção da viabilidade da célula bacteriana e são comuns a bactérias da mesma família, como *Escherichia coli*. Um segundo grupo de genes distingue a *Salmonella* spp de outras bactérias de gêneros semelhantes. Neste grupo estão aqueles genes necessários para adaptação da bactéria à célula hospedeira e para que ela supere os mecanismos de defesa do hospedeiro.

Na transmissão horizontal, a porta de entrada da *Salmonella* Enteritidis é o trato digestivo. No intestino, a *Salmonella* Enteritidis invade a mucosa onde é fagocitada por macrófagos que a transportam pela corrente sanguínea e, na fêmea, alcança o ovário. A contaminação do ovo ocorre no oviduto, quando as células da camada granulosa do folículo ovariano, invadidas pela SE, entram em contato com o óvulo (BRITTO, 1988; SAEED, THIAGARAJAN, ASEN, 1999; REVOLETTI 2008).

A *Salmonella* Enteritidis, em função da localização do aparelho reprodutor e na cloaca, poderá contaminar o ovo, originando a transmissão vertical (BARROW, 1999). Withanage *et al.* (2003), descreveram um aumento no número de linfócitos T, linfócitos B e macrófagos em ovários e ovidutos de aves desafiadas experimentalmente por SE. Esses autores demonstram, ainda, a importância da imunidade local no controle da *Salmonella* Enteritidis.

Apesar da letalidade em pintos variar de acordo com o sorotipo de *Salmonella* (ROY *et al.*, 2001), em algumas situações, observam-se diferenças de patogenicidade para um mesmo fagotipo (BARROW *et al.*, 1987). A fagotipagem tem sido o método mais empregado para diferenciação de cepas de *Salmonella* (VALDEZATE *et al.*,



2000). No Brasil, a fagotipagem de 227 isolados de *Salmonella* Enteritidis, provenientes de produtos avícolas e alimentos humanos, revelaram 57,65% de prevalência do fagotipo 4, 32,43% do fagotipo 4a, 3,6% do fagotipo 6a, e 0,9% do fagotipo 7 (SANTOS *et al.*, 2003). O fagotipo 4 é extremamente importante, pois se caracteriza por quadros de alta invasibilidade e letalidade em aves jovens (BARROW e LOVELL, 1991; GAST e BENSON, 1995).

As aves adultas são relativamente resistentes à multiplicação sistêmica por *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium, porém podem sofrer colonização do trato digestivo com ausência de manifestação clínica e permanecer como portadores disseminando o agente intermitentemente (GAST, 2003). A doença clínica é normalmente observada em pintinhos quando estes são infectados logo após o nascimento (BARROW, 2000). Aves jovens podem apresentar sonolência, diarreia, asas caídas e refugagem (BERCHIERI JÚNIOR e FREITAS NETO, 2009). Experimentalmente, BARROW (1991) observou que cepas de SE variam consideravelmente na capacidade de causar doença sistêmica em aves recém nascidas, com mortalidade de 0% a 100%. Independente da presença de manifestação clínica nas aves, o sorotipos relacionados com o paratifo aviário estão associados a casos de toxinfecção alimentar em seres humanos (BARROW *et al.*, 1999, 2000).

A transmissão para o homem, geralmente, ocorre através do consumo de alimentos contaminados, principalmente carnes e ovos; mas a infecção entre humanos e entre animais e humanos também pode ocorrer (PROST e RIEMANN, 1967; DARWIN e MILLER, 1999). Após a ingestão oral, as bactérias que sobreviveram ao baixo pH provocado pelo ácido clorídrico, colonizam o intestino, principalmente nas Placas de Peyer, onde estão localizadas as células M. Depois da colonização intestinal, a *Salmonella* invade as células M e os enterócitos, com o auxílio do Sistema de Secreção do tipo III (GAL-MOR, 2010). Estudos com camundongos demonstram que, das bactérias ingeridas e que resistiram ao baixo pH, 80% delas são eliminadas diretamente nas fezes, 15% permanecem na superfície das células intestinais e apenas 5% delas invadem o epitélio. Após a invasão celular, as células bacterianas são fagocitadas por macrófagos. Quando os macrófagos conseguem deter a bactéria, ela causa apenas a infecção local no trato digestivo. Por outro lado, quando as bactérias conseguem permanecer viáveis dentro dos macrófagos, ocorre a infecção sistêmica. Dentro dos macrófagos se a *Salmonella* consegue se multiplicar, é levada a todo o organismo (BAUMER *et al.*, 1997). Através das proteínas efectoras, a bactéria provoca a apoptose

desses macrófagose, utilizando de um segundo tipo de Sistema de Secreção do Tipo III (codificado por outra região do DNA bacteriano); o micro organismo consegue sair dessa célula e voltar para o lúmen intestinal para ser eliminado através das fezes (GALMOR, 2010). Essa sequência de fatos leva a uma lesão dos vilos intestinais e à redução da superfície de absorção. A *Salmonella* também faz com que ocorra influxo de células polimorfonucleares para a mucosa infectada, induzindo a uma diarreia aquosa que pode conter sangue (WALLIS e GALYOV, 2000).

## 2.6 Saúde Pública

O consumo de carnes de aves experimentou um aumento em nível mundial. No Brasil, este aumento vem ocorrendo desde a implantação do Plano Real, em 1994, o que tornou o preço do frango acessível a todos estratos econômico-sociais. Esse implemento de consumo trouxe, paralelamente, fatores positivos e uma preocupação, que é o aparente aumento no número de casos de toxinfecção alimentar em humanos, envolvendo produtos de origem avícola (NASCIMENTO, *et al*, 1996a).

As dimensões dos problemas de salmonelose aviárias têm se ampliado nos últimos anos. Atualmente, pela inter-relação com a saúde pública, as pressões políticas e as exigências dos consumidores têm aumentado, tornando a prevenção das enfermidades de origem alimentar para os homens, uma prioridade entre os produtores avícolas. A pulorose e o tifo aviário têm sido combatidos, efetivamente nos EUA, com um programa de testes e remoções das aves positivas. As espécies causadoras de infecções paratíficas, entretanto, não possuem um hospedeiro específico, sendo isoladas em animais silvestres, domésticos e humanos (GAST, 1997).

Na década de 1980 a *Salmonella* Enteritidis, especialmente o fagotipo 4, disseminou-se amplamente na indústria avícola internacional. Com a presença desta infecção em matrizes e dada a sua capacidade de colonizar o trato reprodutivo e infectar os ovos antes da postura, esta infecção se tornou generalizada. Em resposta aos riscos para segurança alimentar, associados a essa *Salmonella* em aves e outros animais, a União Européia (EU) introduziu novos regulamentos em 2003, que estabeleceram um sistema que visa identificar a prevalência em cada segmento e em cada país e, em seguida, encorajar melhor controle destas infecções (MC MULLIN, 2004; MC MULLIN, 2009).

A *Salmonella* spp é considerada uma bactéria cosmopolita, com distribuição em praticamente todos os países. Surtos de salmoneloses são bastante comuns nos continentes africanos e asiáticos. Estudos realizados nestes locais demonstraram que a prevalência de *Salmonella* spp varia de 11,6% até 32% em carcaças e cortes de frangos (VERMA e GUPTA, 1997; LIMAWONGPRANEE *et al.*, 1999; CARDINALE *et al.*, 2003; MORITA *et al.*, 2003). Ainda hoje há isolamento de *Salmonella* spp de produtos de origem avícola na Europa. As taxas de prevalência variam entre 35,83% na Espanha e 91,3% na Polônia. Em outros países a taxa permanece inferior a 50% (BERNARDO e MACHADO, 1989; MACHADO e BERNARDO, 1990; DOMÍNGUEZ, GÓMEZ, ZUMALACÁRREGUI, 2002; GLÓSNICKA e KUNIKOWSKA, 2002).

Em Portugal, no período de 1986 a 1987, foram analisadas 300 amostras de carcaças de frango, onde se isolou *Salmonella* spp. de 55% delas; sendo *S. Enteritidis* o sorovar mais prevalente (65,5%) (BERNARDO e MACHADO, 1989; MACHADO e BERNARDO, 1990). Em relação à prevalência de sorovares circulantes NE Europa, de 1962 a 1991, observou-se um aumento de ocorrência de *S. Enteritidis* de 93,8% (GLÓSNICKA e KUNIKOWSKA, 2002). De 1978 a 1988, detectou-se a presença de *S. Enteritidis* em 5,45% dos 118.685 isolados de *Salmonella* a partir de humanos e 2,65% dos 3.315 isolados a partir de alimentos na Itália. *S. Enteritidis* foi relatada em 7,4% dos 568 isolados de *Salmonella* a partir de ovos e carne de frango (FANTASIA *et al.*, 1991). Já no período de 1982 a 1992, observou-se que o isolamento de *S. Enteritidis* em humanos acometidos pela salmonelose aumentou de 2,4% para 57,1%, e a partir das amostras de alimentos aumentou de 0,5% para 22,8% (FANTASIA e FILETICI, 1994).

Segundo o *Center for Diseases Control and Prevention* (CDC), a salmonelose é responsável por, pelo menos, 1,4 milhões de doentes, 15.000 hospitalizações e 400 mortes por ano nos Estados Unidos (GAST, 2008).

Mota *et al* (1983) descreveu o primeiro surto de *Salmonella* Enteritidis ocorrido no Brasil, porém foi a partir de 1993 que a *Salmonella* Enteritidis emergiu como um grande problema de saúde pública. Até 1990 a *Salmonella* Enteritidis era raramente encontrada em infecções humanas, mas passou a corresponder a mais de 60% dos sorovares isolados no Instituto Adolfo Lutz em 1995 (SILVA e DUARTE, 2002).

Enquanto no passado a principal motivação para o controle das infecções por salmonelas em aves era reduzir as perdas devido à doença clínica, atualmente sua implicação na saúde humana, tem feito da prevenção da transmissão da *Salmonella* sp,

através dos alimentos, uma prioridade para o setor avícola, levando este gênero a ser um dos mais amplamente estudados (NASCIMENTO e SANTOS., 2005).

A toxinfecção humana devido à ingestão de produtos alimentícios contaminados por *Salmonella* tem registros que datam do final do século passado. Muitos casos de toxinfecções humanas por *Salmonella* Agona na Europa e Estados Unidos foram associados à ingestão de produtos alimentícios de origem avícola (BERCHIERI JÚNIOR, 2000). Os sorovares mais associados às infecções alimentares são *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium. Os primeiros registros em humanos de *Salmonella* Enteritidis datam de 1888 em Frankenshause na Alemanha (TESSARI, CARDOSO, CASTRO, 2003).

Segundo Forshell e Wierup (2006), a salmonelose em seres humanos é geralmente manifestada como uma enterocolite localizada. A incubação varia de cinco horas a sete dias. Os sinais clínicos geralmente começam entre 12 e 36 horas após a ingestão de um alimento contaminado. O período de incubação mais curto é, geralmente, associada a doses mais elevadas do patógeno ou pessoas altamente suscetíveis. Os sinais clínicos incluem diarréia, náuseas, dor abdominal, febre, calafrios, vômitos, prostração anorexia, cefaléias e mal estar. A síndrome geralmente dura de dois a sete dias.

Infecções sistêmicas ocorrem e geralmente envolvem pessoas muito jovens, idosos ou imuno-comprometidos. As fezes dos pacientes infectados contêm grandes números de *Salmonella* spp no início da doença. Esses números tendem a diminuir com o passar do tempo. Alguns pacientes tornam-se portadores e alguns, ainda, continuam excretando *Salmonella* spp depois três meses (FORSHELL e WIERUP, 2006).

As infecções por salmonela podem ser graves, sendo considerada como dose infectante para indivíduos sadios, contagens bacterianas entre  $10^5$  e  $10^7$  unidades formadoras de colônia (UFC). Entretanto, foi constatada, experimentalmente, que apenas 17 organismos ou, dependendo das condições de infecção, apenas um é suficiente para iniciar um processo de toxinfecção alimentar (NASCIMENTO e SANTOS, 2005).

Segundo Todd (1980), A salmonelose é a principal doença transmitida por alimentos, sendo que o aumento em sua incidência está associado ao aumento do consumo de produtos avícolas.

Muitos sorovares Paratíficos têm sido isolados de aves domésticas, caracterizando-se como um dos principais reservatórios de salmonelas envolvidas em casos de toxinfecções alimentares (REVOLETTTO, 2008).

Após a ingestão de um alimento ou água contaminada, o microorganismo pode penetrar no epitélio intestinal e, posteriormente, localizar-se em camadas epiteliais mais profundas. Evidências indicam que a bactéria se associa preferencialmente a macrófagos no interior das placas de Peyer, no íleo distal, induzindo a formação de ondas na superfície de células infectadas, nos sítios de entradas dos microrganismos. Dependendo do sorovar e do hospedeiro infectado, as salmonelas podem ser transportadas pelos macrófagos para tecidos como o fígado e o baço, onde se multiplicam ou permanecer na lâmina própria do epitélio intestinal (NASCIMENTO e SANTOS, 2005; GAL-MOR, 2010).

As bactérias capazes de fixar-se através de suas fímbrias à superfície das carcaças, tendo como aliada à formação de um “filme” de líquidos durante o processamento, causa enorme dificuldade para serem removidas. Em todos os produtos destinados ao consumo humano, a inaceitabilidade de presença de salmonela é total, ou seja: zero salmonela no produto final (NASCIMENTO e SANTOS, 2005).

Com relação à carne de frango, está demonstrado que mesmo um pequeno número de animais inicialmente infectados, pode causar a multiplicação destas ocorrências a partir da contaminação de toda uma linha de abate, representando uma ameaça à saúde pública em casos onde as carcaças são mal processadas. Assim, em frangos de corte, os atuais métodos de abate e prática de processamento podem disseminar microorganismos de uma carcaça para outra; e o consumo dessa carne, portanto, envolver a ingestão de bactérias potencialmente patogênicas, introduzindo o agente na cadeia alimentar humana (SEAN *et al.*, 2006).

A presença de salmonela no intestino, na pele e entre penas das aves, pode causar contaminação das carcaças durante o abate e o processamento (HUMPHREY, MEAD, ROWE, 1988).

Segundo Berchieri Júnior *et al.* (1987), A bactéria que foi introduzida pelas aves no frigorífico é espalhada para todas as dependências e equipamentos, comprometendo a qualidade do produto final para o consumo humano; ou dos subprodutos que irão compor rações animais. Da mesma forma quando introduzido no incubatório, conforme observado.

Segundo Green *et al.* (1982) Apud Lillord (1989), o “Food Safety and Inspection Service realizou um levantamento nos EUA e concluiu que somente 3% a 4% dos frangos de corte que chegam no frigorífico avícola são positivos para *Salmonella*, enquanto que cerca de 35% das aves processadas que saem para o consumo são positivas para essa bactéria”.

Segundo Todd (1989), nos EUA, dentre as doenças bacterianas transmitidas por alimentos para humanos, a salmonelose é a que representa maior custo: cerca de quatro bilhões de dólares anuais para um total estimado de, aproximadamente, três milhões de casos. Também nos EUA, Bokanyi Júnior, Stephens e Foster (1990) afirmaram que 43% de 142 amostras (carcaças e parte de frangos) pesquisadas entre julho de 1987 a janeiro de 1988, apresentavam-se contaminados por salmonela.

Num período de cinco anos (1985-1989), ocorreram 189 surtos nos EUA, causadas somente por *Salmonella* Enteritidis, com 6.604 casos pessoas envolvidas, das quais 43 morreram. Um surto é definido como dois ou mais casos de infecção confirmada laboratorialmente em pessoas que partilharam uma fonte de exposição em comum (NASCIMENTO e SANTOS, 2005).

Na Tailândia, Jerngklinchan *et al.* (1994) isolaram salmonela em 467 de 705 amostras de carne de frango analisadas, constituindo um total de 66% das amostras. Em Portugal, esta contaminação foi da ordem de 57% (171/300) em amostras de carne de frango, Machado e Bernardo (1990). Enquanto que na Venezuela, a contaminação observada por Rengel e Mendoza (1984), foi de 49% (22/45).

Estima-se que cerca de 840.000 casos de problemas gastrointestinais humanos que ocorrem anualmente na Itália, são causados por salmonelas. Também na Itália, entre 1982 e 1992, os percentuais de isolamento de SE aumentaram de 2,4 para 57,1% em humanos e de 0,5 para 22,8% em alimentos (FANTASIA *et al.*, 1991).

Na Inglaterra, a carne de frango tem sido referida como um importante veículo de SE, enquanto que outros países, semelhante ao Reino Unido, citam ovos com casca intacta ou alimentos contendo ovos como a principal origem desses microrganismos. Já na Tailândia (NASCIMENTO e SANTOS, 2005), foi estudada a contaminação da casca e conteúdo de ovos que demonstrou que apenas 0,24% dos ovos de galinhas e 0,71% dos ovos de patas analisados estavam contaminados com a bactéria, concluindo que a difusão de *Salmonella* Enteritidis poderia ser primeiramente atribuída à carne de frango. No País de Gales e na Inglaterra, os relatos de infecções humanas por *Salmonella* SP, segundo o Public Health Laboratory Service (PHLS), aumentaram de aproximadamente

12.000 em 1982 para mais de 31.000 em 1992. Tal fato foi atribuído ao incremento, desde 1987, da incidência de infecções causada por *Salmonella* Enteritidis (NASCIMENTO e SANTOS, 2005). No Reino Unido, Plummer, Blisset e Dodd (1995) encontraram contaminação por salmonela em 77 de 325 amostras, constituindo 22,8% dos casos de produtos avícolas analisados comercializados no varejo (carcaças, peitos, asas e coxas).

A *Salmonella* é considerada o primeiro agente bacteriano responsável por surtos de gastroenterites em humanos na França, a partir de alimentos; e os sorovares Enteritidis e Typhimurium teriam particular importância sendo, predominantemente, isolados de produtos de origem aviária. Na Inglaterra e País de Gales, a carne de frango foi responsabilizada por surtos e casos esporádicos em seres humanos, perfazendo aproximadamente 30.000 casos de infecções alimentares ao ano (NASCIMENTO e SANTOS, 2005).

Dados do *Royal Institute of Veterinary Medicine*, na Holanda, relatam que a proporção de casos nos quais a *Salmonella* Enteritidis foi identificada como causa de salmonelose em humanos, elevou-se de 8,2 para 33,5% entre 1988 e 1992.

No Brasil, Cunha Neto (1976) realizou, em 1974, um estudo de três plantas de processamento avícola em Belo Horizonte (MG), tendo encontrado salmonela em 34% das amostras (51 de 150).

Também no Brasil, a média de surtos de toxinfecções alimentares atendidas no Instituto Adolfo Lutz (IAL-SP) ficou em torno de cinco a dez por ano, atingindo cerca de 500 a 1.000 pessoas por surto; abrangendo todos os tipos de salmonelas. Em 25 episódios caracterizados como toxinfecção alimentares, ocorridas no período de 1982 a 1991, nas regiões sul e sudeste do Brasil, foram identificados sorovares de salmonelas (NASCIMENTO e SANTOS, 2005).

De 5.686 amostras de salmonela isoladas em diferentes estados do Brasil (GO, MG, MT, PI, PR, RJ, RS e SP), no quinquênio de 1992 a 1996, foram caracterizados 58 sorovares, sendo que os cinco principais estavam envolvidos em 79% dos isolamentos (*Salmonella* Enteritidis – 61,7%, *Salmonella* Heidelberg – 8,3%, *Salmonella* Hadar – 4,5%, *Salmonella* Typhimurium – 2,3% e *Salmonella* Infantis – 2,2%). Considerando-se a variação na classificação, destaca-se o aumento da incidência de *Salmonella* Enteritidis, que evoluiu, da quarta posição em 1992, para a primeira em 1993, 94, 95 e 96 (NASCIMENTO e SANTOS, 2005).

Um trabalho realizado em Pelotas, no estado do Rio Grande do Sul de 1997 a 1998, encontrou-se *Salmonella* spp em 10,48% das amostras (13/124) de produtos de frangos pesquisados (BAÚ, CARVALHAU, ALEIXO, 2001). Pesquisou-se *Salmonella* spp em 470 amostras de superfícies, água, carcaça de frango, cortes, vísceras e resíduos de matadouros-frigoríficos da região sul do Brasil. Foi encontrada uma prevalência de 2,6%, sendo 10% de água de escaldagem; 6,7% de pernas frescas; 10% de asas congeladas; 20% de pele de peito e pernas e 10% da pele do pescoço (REITER *et al.*, 2007). Outro estudo realizado no estado do Rio Grande do Sul detectou *Salmonella* spp em 15,1% das carcaças analisadas e em 26,1% amostras de corte de frangos. Os principais sorovares identificados foram *Salmonella* Enteritidis (51%), *Salmonella* Hadar (26%) e *Salmonella* Heidelberg (11%) (NASCIMENTO *et al.*, 1996). Contudo, não foi isolada *Salmonella* spp em nenhum dos 564 ovos analisados em Pelotas, em 1996 (BAÚ *et al.*, 2001). Estima-se que apenas um, de cada 20.000 ovos comerciais produzidos nos (EUA), esteja contaminado pelo micro-organismo (EBEL e SCHLOSSER, 2000). Ovos com casca íntegra, artificialmente contaminados com fezes contendo *S. Enteritidis* e armazenados em ambientes com oscilação de temperatura e umidade, não apresentaram tendência de invasão e micro-organismo para o interior do ovo (BORGES, PINTO, SILVA, 2009).

Em trabalho que analisou 41 amostras de sobre-coxas de frango, coletadas entre setembro e outubro de 1996, em açougues e feiras livres da cidade de São Paulo, foi possível detectar a presença de salmonela em 18 amostras (44%); das quais 98,9% pertenciam ao sorovar Enteritidis. (NASCIMENTO e SANTOS, 2005).

No Rio Grande do Sul tem havido incremento nos casos de toxinfecção alimentar noticiados pela imprensa de Porto Alegre; com suspeita clínica de salmonelose, sempre associados à ingestão de produtos de origem avícola ou de alimentos preparados com ovos, como a maionese caseira. Nos últimos anos, um levantamento dos índices de contaminação por salmonela em carcaças de frangos, realizado pelo Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Patologia Aviária (CDPA), da Universidade Federal de Rio Grande do Sul (UFRGS), pode comprovar que 17,5% das 1.014 carcaças examinadas foram positivas para salmonela (NASCIMENTO 1996b; NASCIMENTO e SANTOS, 2005).

Santos *et al.* (2000) pesquisaram o agente em 150 carcaças congeladas de frango, oriundas de quatro marcas comerciais, e observaram um percentual de 32% de positividade para *Salmonella*. Foram identificados 11 sorovares, e a *Salmonella*



Enteritidis foi o sorovar dominante, sendo isolada em 29 carcaças das 48 contaminadas com microrganismos.

Durante o período de 1997 a 2007, o Centro Estadual de Vigilância em Saúde (CEVS/RS) recebeu 1777 notificações de surtos de doenças transmitidas por alimentos. Deste total, 669 (37,6%) foram causados por diferentes sorovares de *Salmonella*. Mais de 50 casos são relacionados ao consumo de carne de frango, e, quase 400 foram ocasionados pelo consumo de salada de maionese contendo ovos crus (FIGUEIREDO, 2008). Apesar desta alta relação entre o consumo de ovos e os surtos alimentares envolvendo micro-organismos do gênero *Salmonella*, poucos estudos demonstram o isolamento da bactéria diretamente dos ovos disponíveis para o consumo. Em uma tentativa de isolamento de *Salmonella* em 19 amostras de alimentos envolvidos em 10 surtos alimentares relacionados à salmonelose em 2005, no estado do Rio Grande do Sul, relacionaram-se ovos, maionese e carne de frango em oito desses surtos. As maiores contagens de *Salmonella* foram encontradas em alimentos contendo maionese (MUERMANN *et al.*, 2008).

Em Santa Catarina um estudo realizado de 2006 a 2008, teve-se 295 surtos de doença transmitida por alimento (DTA), com 2.148 doentes. Destes 43% causados por *Salmonella* sp. Estima-se que 70% eram pertencentes ao sorovar SE, cujo a contaminação se deu em 57% dos surtos foram em decorrência de maionese preparada com ovos crus e 13% dos casos com ingestão de carne de frango (LUCA e KOERICH, 2009).

No Brasil existem muitos estudos de prevalência e frequência de isolamento de *Salmonella* spp. em produtos de origem avícola. Um estudo realizado em 1996 pesquisou este micro-organismo em 45 cortes (15 peitos, 15 asas e 15 coxas) oriundos do comércio de Jaboticabal/SP. Dos cortes examinados, 35% estavam contaminados, sendo 46,6% de asas, 40% de peito e 20% de coxas. Neste estudo foram identificados 10 sorovares de *Salmonella* spp.; sendo que o sorovar mais prevalente foi o *Salmonella* Enteritidis (COSTA *et al.*, 1997). No período de 1996 a 1997, 32% das amostras de carcaças de frangos analisadas em São Paulo apresentaram a bactéria (SANTOS *et al.* 2000). Conforme a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2008), os dez sorovares mais frequentemente isolados de carcaças de frango e aves vivas no Brasil, em 2008, estão listados na Tabela 1.

Tabela 1 – Sorovares mais prevalentes em aves vivas e carcaças de frango no Brasil.

<b>Sorovares</b>	<b>Prevalência (%)</b>
S. Enteritidis	48,8
S. Infantis	7,6
S. Typhimurium	7,2
S. Heidelberg	6,4
S. Mbandaka	4,8
S. Agona	3,6
S. Rissen	3,2
S. Panamá	2,0
S. Give	2,0
S. Ohio	1,2
S. Senftenberg	1,2

Fonte: Brasil (2008).

Ante a crescente preocupação com os patógenos emergentes nos últimos anos, a *Salmonella* continua sendo a principal causa de infecção alimentar no mundo (GAST, 2008).

O isolamento de *Salmonella* Enteritidis aumentou, nos últimos anos, em surtos de intoxicação alimentar na América do Norte, segundo alguns estudos. No Canadá, a prevalência de *Salmonella* Enteritidis, em humanos, aumentou 9% para 12% de 1989 a 1991 (POPPE, 1994). Nos Estados Unidos, a *Salmonella* Enteritidis é o segundo sorovar mais freqüente em fontes humanas; sendo a *Salmonella* Typhimurium o mais freqüente e o nono em amostras clínicas não humanas em 2001 (OLSEN *et al.*, 2001)

Este aumento, na prevalência do sorovar *Salmonella* Enteritidis, também foi observado nos países da América do Sul. Desde 1994, a ocorrência de *Salmonella* Enteritidis no Chile aumentou 3.000%, se comparada às baixas taxas dos anos anteriores; sendo que as razões para a emergência deste sorovar não estão bem esclarecidas (PRAT *et al.*, 2001). Na Argentina também houve um aumento dos registros de *Salmonella* Enteritidis desde 1986. Entre 1986 e 1993, foram relatados 150 surtos de infecções alimentares por *Salmonella* Enteritidis, afetando cerca de 6.230 pessoas (CAFFER e EIGUER, 1994)

Considerando a difusão mundial das salmoneloses em nossos dias; considerando o comportamento das *S. paratíficas* na relação com seus diversos hospedeiros (inclusive humanos); considerando a capacidade da *S. Enteridis* produzir septicemia e verticalidade de transmissão nas aves; considerando que sua difusão no Brasil aumentou em 1000% no período de 1979 a 1987; considerando seu isolamento predominantemente em alimentos de origem avícola no país, torna-se necessário – e mesmo indispensável – determinar-se a origem dos mesmos e estudos específicos para que se possa estabelecer sólidos e confiáveis programas sanitários de controle e prevenção das salmoneloses (NASCIMENTO e SANTOS, 2005).

## 2.7 Controle

Devido a tantas fontes de contágio das salmonelas paratífóides (paratíficas), a estratégia para seu controle deverá ser ampla e, também, aplicada abrangentemente às espécies comerciais de aves. Um programa de controle deve incluir testes com remoção dos positivos; produção de alimentos livres de salmonela; eliminação de insetos e aves silvestres das criações; limpeza e desinfecção efetiva das granjas; além do tratamento profilático das aves para reduzir suas susceptibilidades à infecção, como o uso de probióticos e vacinas específicos. Uma combinação destas medidas é necessária para um progresso na redução da incidência da salmonela em aves e produtos avícolas (GAST, 1997).

Dentre as medidas de controle das salmoneloses adotadas em avicultura, o emprego de drogas terapêuticas foi um dos recursos utilizados durante um longo período. Porém, o uso indiscriminado de antibióticos e a adição de promotores de crescimento, em rações animais, contribuíram para a emergência de resistências entre cepas de *Salmonella* e de outras bactérias (BERCHIERI JÚNIOR e BARROW, 1998; BARROW, 2007). Estudos sobre Resistência Microbiana realizado em *Salmonella*, isoladas a partir de carcaças de frangos congeladas, encontrou resistência em 100% das amostras para ampicilina, 75% para cefalotina, 52,1% para cefoxitina, 22,9% para tobramicina, 6,2% para polimixina B e tetraciclina e 4,2% para gentamicina (SANTOS *et al.*, 2000).

Várias alternativas têm sido empregadas em substituição ao uso de terapias com antimicrobianos. Um dos procedimentos bastante utilizados é a exclusão

competitiva por colonização intestinal das aves (FROYMAN *et al.*, 1997, PETERSON BUKHOLDER, 2003; FERREIRA *et al.*, 2003; ANDREATTI *et al.*, 2006).

Aves jovens são extremamente sensíveis à infecção oral por *Salmonella* sp durante os primeiros dias de vida, pois o desenvolvimento da flora intestinal ocorre, apenas, entre a terceira e sexta semanas de idade. A administração de flora bacteriana para exclusão competitiva, nessas aves, dificulta a instalação das *Salmonella* no trato intestinal (BARNES *et al.*, 1972; ANDREATTI, 2006). Em aves adultas, após o uso de antimicrobianos faz-se necessário a administração de flora bacteriana para recomposição da microbiota intestinal. Seo *et al.* (2000), observaram redução significativa de *Salmonella* Enteritidis em aves poedeiras submetidas a muda forçada, que receberam flora intestinal após a antibióticoterapia.

É importante o controle das *salmonellas* nos alimentos oferecidos às aves, pois frequentemente a bactéria está presente nos ingredientes de origem animal utilizados na formulações das rações (GANDOLF *et al.*, 2002). Vários estudos apontam o uso de ácidos orgânicos como uma importante alternativa para a redução da contaminação por *Salmonella* em alimentos (OLIVEIRA *et al.*, 1998; BACK, 2010). Os ácidos orgânicos também têm sido empregados, na água de bebida, para reduzir a colonização de *Salmonella* Enteritidis no papo de frangos de corte (BYRD *et al.*, 2001).

Todos esses métodos descritos conseguem-se boa redução de *Salmonella* Enteritidis, mas nenhuma ferramenta elimina, totalmente, a presença da bactéria na ave e no meio ambiente da granja. O controle torna-se eficiente quando se tem um uso integrado das várias e diferentes alternativas.

Uma medida de controle que vem ganhando destaque, nos últimos anos, para o controle de salmoneloses é a vacinação. O emprego de um programa de vacinação, para a prevenção de diferentes doenças, iniciou-se há mais de 120 anos. A vacinação consiste na exposição controlada a frações antigênicas, ou a cepas atenuadas do agente infeccioso, levando o organismo animal à produção de imunidade contra o respectivo agente patogênico (TIZARD, 2002; BACK 2010).

Para vacinação, existem duas opções: as vacinas vivas e as inativadas. As vacinas vivas estimulam uma boa resposta celular, porém são incapazes de proteger passivamente pintinhos recém eclodidos (BARROW, 1999). Por outro lado, as vacinas inativadas apresentam alta segurança, imunidade de longa duração e altos títulos de anticorpos circulantes, mas imunidade humoral (BERMUDEZ e STEWART-BROWN, 2003).

A proteção induzida pela imunidade humoral reduz, consideravelmente, a invasão e colonização nos órgãos internos e sistema reprodutivo, controlando a transmissão transovariana (SONCINI e BACK, 2001).

Sendo a via transovariana (via vertical) a forma de difusão mais importante para *Salmonella* Enteritidis, a indústria avícola deve concentrar os maiores esforços para interromper o ciclo e produzir pintos de um dia livres de *Salmonella* Enteritidis; sendo a vacinação das matrizes pesadas uma boa ferramenta neste controle (ZUANASE, 2006).

Na Inglaterra, a vacinação instituiu-se em 1993 quando a incidência de *Salmonella* Enteritidis, em matrizes, era de aproximadamente 50%. Houve, desde então, uma redução considerável no número de lotes positivos de matrizes. Em 1999 a indústria de postura criou um selo de qualidade (marca Leão), que exigia das granjas atender uma série de medidas profiláticas, dentre elas a vacinação (MC MULIN, 2004).

A partir de novembro de 2003 foi liberado, pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), o uso de vacina inativada para *Salmonella* Enteritidis com adjuvante oleoso ou hidróxido de alumínio; sendo esta uma ferramenta importante no controle da enfermidade. A vacinação de matrizes comerciais, mediante o controle do MAPA; e somente são permitidas vacinas inativadas. O controle é realizado, principalmente, por meio de exames bacteriológicos. As normas de utilização dessas vacinas foram definidas e estão contidas na Instrução Normativa 78 do Programa Nacional de Sanidade Avícola (BRASIL, 2003).

Nakamura *et al.* (2004), demonstraram que aves vacinadas antes da muda forçada apresentaram, após desafio experimental, excreção fecal significativamente menor em relação ao grupo não vacinado. Gast *et al.* (1993) e Nakamura *et al.* (1994) avaliaram a eficiência de bacterinas de emulsão oleosa na redução da excreção fecal de *Salmonella* Enteritidis, por poedeiras comerciais, desafiadas experimentalmente com  $10^8$  UFC de *Salmonella* Enteritidis. Ambos os tratamentos reduziram significativamente a incidência de colonização intestinal e o número médio de *Salmonella* Enteritidis eliminado nas fezes após o desafio.

Vários estudos apresentam resultados favoráveis ao uso de bacterinas no controle das salmonellas. Soncini e Back (2001) descrevem que, em condições de campo, após um ano com um programa utilizando duas doses de vacinas inativadas, houve uma redução da detecção de *Salmonella* Enteritidis em mecônio de pintos de um dia, de 9-10% para 0%.

Vielitz *et al.* (1992) e Vielitz *et al.* (1996) encontraram altos títulos de anticorpos circulantes em aves vacinadas com bacterinas e essas aves mostraram-se mais resistentes ao desafio em comparação ao grupo controle.

Barman, Sharma e Kumar (2005) avaliaram a eficácia da proteção por anticorpos maternos em pintos de um dia contra salmonelose; sendo que a imunidade passiva ocorre durante os primeiros dias de vida da progênie e sua proteção foi de 83,33%.

Davison *et al.* (1999) consideram que o uso de bacterinas não é, totalmente, eficaz para a redução de salmonelas no trato entérico e no meio ambiente. De acordo com Gast *et al.* (1993), o emprego de bacterinas oleosas contra *Salmonella* Enteritidis em poedeiras comerciais ocasiona uma redução significativa na incidência de colonização intestinal e na excreção fecal na primeira semana após o desafio, porém as aves continuam a eliminar *Salmonella* Enteritidis pelas fezes.

Gast *et al.* (1992), comparando amostras de aves vacinadas com bacterinas oleosas, desafiadas três semanas após a segunda dose, isolaram menos *Salmonella* Enteritidis em fígado, ovário, ovidutos e ovos em relação ao grupo controle.

Tavechio *et al.* (2002) e Kanashiro *et al.* (2005) relataram que a imunidade passiva tem grande importância, pois pintos recém-nascidos correm risco de serem infectados precocemente nas granjas e incubatórios.

Inoue (2006) evidenciou, após o uso de vacina inativada em matrizes de corte, da proteção, através dos anticorpos maternos, na redução da colonização de órgãos internos, bem como na menor eliminação de *Salmonella* Enteritidis pela fezes em pintos de corte.

Vários fatores devem ser considerados na avaliação de efetividade das vacinas contra *Salmonella* Enteritidis. Segundo Davies e Breslin (2003) e Back (2010), os problemas nos controles de roedores e na limpeza e desinfecção precárias, são os principais responsáveis por falhas no desempenho das vacinas. Soncini e Back (2001) sugerem que, pelo fato de as salmonelas serem microrganismos intracelulares facultativos, a vacinação em aves já infectadas resulta em insucesso pela eliminação das bactérias que já estão dentro dos macrófagos.

Os benefícios do uso de bacterinas na redução da transmissão vertical de *Salmonella* Enteritidis também é foco de estudo. Woodward *et al.* (2002) demonstraram que aves vacinadas com bacterinas e desafiadas, experimentalmente, apresentavam número significativamente inferior de ovos positivos para *Salmonella* Enteritidis em

relação ao grupo controle. Miyamoto *et al.* (1999) demonstraram, por meio de desafio intravaginal, que a vacinação com bacterinas oleosas protegeu os ovos contra a contaminação por *Salmonella* Enteritidis. Nesse estudo, a bactéria foi recuperada em 13,3% dos ovos colhidos do oviduto de aves do grupo controle, enquanto nenhum dos ovos do grupo de aves vacinadas apresentou contaminação.

Inoue (2006) demonstrou que matrizes de corte, vacinadas com bacterinas contra *Salmonella* Enteritidis, apresentaram menor produção de ovos contaminados e, conseqüentemente, menos pintos de corte positivos para *Salmonella* Enteritidis. De acordo com Ward *et al.* (2000), os casos de *Salmonella* Enteritidis em humanos, na Inglaterra, tiveram declínio desde 1994, quando houve a introdução de vacinas de *Salmonella* Enteritidis.

O adjuvante oleoso permite a liberação do antígeno no organismo do hospedeiro de forma gradual e, por um período de tempo prolongado, conferindo imunidade mais duradoura, do que aquelas induzidas por adjuvantes de hidróxido de alumínio. Em contra-partida, as emulsões oleosas são mais agressivas, causando dor, calor e edema, quando comparadas com as de emulsões de hidróxido de alumínio. (MANUAL TÉCNICO, 2007).

O uso de uma bacterina oleosa de *Salmonella* Enteritidis dá proteção da colonização intestinal, bem como, reduz a contaminação da casca do ovo. Observa-se, também, uma proteção cruzada para outros sorogrupos. (MATERIAL TÉCNICO, 2008).

As vacinas inativadas são usadas para proteger as aves durante toda a fase de produção de ovos. Em aves reprodutoras, além da imunização da própria ave, o objetivo é estimular a produção de concentração sanguínea elevada de anticorpos, visando à transferência de imunidade passiva para a progênie. (MANUAL TÉCNICO, 2007).

A vacinação, assim como outras ferramentas, não elimina totalmente a incidência de *Salmonella*. Porém, pode auxiliar na redução da sua presença nas aves e sua disseminação no ambiente (BARBOUR *et al.*, 1993). Quando utilizada em conjunto com outras medidas de higiene e biosseguridade (BERCHIERI JÚNIOR, 2000; BERCHIERI JÚNIOR e FREITAS NETO, 2009; BACK, 2010), a vacinação com bacterinas pode reduzir, potencialmente, o nível geral de contaminação ambiental e, conseqüentemente, reduzir a transmissão horizontal de *Salmonella* Enteritidis dentro e entre os lotes de aves (GAST *et al.*, 1993; INOUE, 2006).

O controle se completa através de programas de monitoramento das granjas. A pesquisa de *Salmonella* sp em aves, pode ser feita examinando-se fezes e órgãos de eleição, como fígado e baço (HOLT *et al.*, 1994; GAST, 1997; INOUE, 2006).

Segundo Mullin (2009), o controle da infecção em matrizes de corte é um pré-requisito para o controle efetivo para aves comerciais.

O Ensaio Imunoenzimático (ELISA) é empregado como indicativo para o diagnóstico indireto da infecção de aves por *Salmonella* Enteritidis. Amostras positivas, sorologicamente, devem ser comparadas por exame bacteriológico (BARROW, 1998).

O ELISA pode detectar resposta sorológica em aves portadoras quando não for possível a identificação, por meio de exames bacteriológicos, mediante cultura de suabe cloacal, amostras de cama e amostras de órgãos de aves velhas (DADRAST *et al.*, 1990). Segundo Barrow *et al.* (1989), aves sorologicamente positivas podem não ter excreção fecal e, portanto, apresentar resultado bacteriológico negativo.

Já se demonstrou que a imunidade passiva que a progênie recebe, induz uma boa proteção nos primeiros dias. Esta proteção, vinda da mãe, é importante porque é na idade jovem que a ave é mais susceptível. Aves que não foram desafiadas para *Salmonella* Enteritidis e que foram vacinadas, apresentaram anticorpos detectáveis até o 28<sup>o</sup> dia de idade em ELISA SE (INOUE, 2006).

A comprovação dos benefícios da vacinação para a progênie é um bom avanço no controle dos prejuízos causados pela *Salmonella* Enteritidis, pois, concomitantemente aos problemas de saúde pública, o agente é responsável por manifestações clínicas que levam a resultados zootécnicos ruins (BERCHIERI JÚNIOR, 2000; GAST, 2003; INOUE, 2006).

Espera-se que as progênies das matrizes vacinadas tenham menor percentagem de contaminação por *Salmonella* Enteritidis do que as progênies de matrizes não vacinadas. Considerando a infecção precoce, por *Salmonella* Enteritidis, como um dos pontos críticos a serem controlados e, conseqüentemente, poderão auxiliar na elaboração de medidas para reduzir a disseminação do agente e dos prejuízos causados pela enfermidade.

Este trabalho visa avaliar a eficácia da vacina de SE (inativada) em matrizes pesadas, que foi aplicada nas oito e dezenove semanas na fase de recria dessas matrizes (tratamento 1), bem como, das matrizes que não receberam a vacina (tratamento 2). A análise foi feita através de coleta de material para bacteriológico no incubatório de ovos



bicados e pintinhos natimortos. Nas granjas de frangos de corte, serão coletados suabes de arrasto com idades entre 21 – 30 dias dos lotes do tratamento 1 e 2.

### **3. MATERIAL E MÉTODO**

#### **3.1 Descrição do local do experimento**

##### **3.1.1 Empresa**

A empresa está localizada no estado do Paraná, tendo unidades espalhadas em várias unidades da federação, sendo uma unidade no exterior. Possui granjas de matrizes de corte, incubatórios, granja de frangos de corte e fábrica de rações.

##### **3.1.2 Local e data**

O experimento foi realizado de janeiro a dezembro de 2009 e de janeiro a dezembro de 2010, na integração dessa empresa avícola no estado do Paraná. As matrizes estavam alojadas noutro estado, seus ovos eram incubados e/ou transferidos para o estado do Paraná, bem como suas progênies.

##### **3.1.3 Característica do experimento**

O volume de frangos abatidos, dessa empresa, era de 3.200.000 aves por mês, da linhagem COBB 500. Uma média de 126.000 aves/dia, com 25/26 abates por mês. Foram analisados 20% dos lotes abatidos, correspondendo a 640.000 aves por mês. O incubatório tinha capacidade de produzir 8.500.000 pintinhos ao mês, com seis nascimentos por semana; sendo 283.333 pintinhos ao dia. 50% dos pintinhos que nasciam eram alojados na integração da empresa, no Paraná; 20% eram alojados nas integrações da empresa, em outros estados. E 30% eram vendidos para outras empresas.

##### **3.1.4 Estrutura (Instalações e equipamentos)**

Os aviários, neste estudo eram sua grande maioria, de 100 x 12 metros, com vigas de baldrame e pilares de concreto moldado no local; vigas de madeira e estrutura de madeira, com telhas de amianto (Brazilit®); portas de madeiras e pintura em cal. Estes eram equipados com bebedouros tipo nipple e comedouros automáticos.

Água era tratada com cloro três ppm e fornecida, geralmente, de fontes profundas, nascentes d'água e poço artesiano, a depender da propriedade.

A ração era fornecida pela empresa integradora; feita dentro de padrões de alta qualidade, seguindo Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) e com Boas Práticas de Fabricação (BPF).

As camas eram de maravalha. A reutilização das camas eram prática comum na empresa, desde que esta cama não tivesse tido problemas sanitários; como positividade para *Salmonella* por exemplo, acompanhadas por monitorias de rotina. Se o lote fosse positivo para esta enfermidade, descartava-se a cama, fazia-se limpeza/desinfecção, vazio sanitário e colocava-se maravalha nova, sendo este o procedimento operacional (P.O.) da empresa. Sempre, na saída de lotes, era feita fermentação dessas camas, para serem reaproveitadas. A fermentação era feita inleirando a cama em montes de 50/60 cm de altura, do início ao fim do aviário, em quatro linhas. Também se usava cal, na proporção de 14 sacos de cal para 1200 m<sup>2</sup>. Umedecia-se a cama inleirada com 1,5 l/m<sup>2</sup> e cobria-se, com uma lona preta, para facilitar a fermentação. Essas camas ficavam fermentando entre cinco e sete dias, dependendo do vazio sanitário. Quando era feito o alojamento, eram usadas sobreposições, com maravalha nova na pinteira.

## **3.2 Delineamento experimental**

### **3.2.1 Matrizes de corte em produção**

Nas matrizes não vacinadas eram da linhagem COBB 500, tinham-se 300.000 aves alojadas no ano de 2009 e no ano de 2010 alojaram-se, também, 300.000 matrizes vacinadas da mesma linhagem. Podemos caracterizar como nove lotes, tendo em vista que foram nove granjas testadas em produção no sistema de parceiro-produtor.

Frangos originados de matrizes não vacinadas, na fase de recria, correspondiam aos lotes abatidos no tratamento 1, que totaliza 38.400.000 aves, em aproximadamente 3.000 lotes, totalizando aproximadamente 300 dias de abate no ano.

Frangos originados de matrizes vacinadas contra *Salmonella* Enteritidis (inativada, em adjuvante oleoso) na fase de recria com oito e 19 semanas, via intramuscular, correspondiam aos lotes abatidos no tratamento 2, também totalizando 38.400.000 aves em, aproximadamente, 3000 lotes, totalizando coisa de 300 dias de abate no ano.

Não se usava antibiótico (via sub-cutânea) nos pintinhos das progênes não vacinadas e vacinadas no período em questão, para poder validar o experimento. Nos 30% das progênes que eram vendidas usava-se antibiótico Celtiofur Sódico na dosagem de 0,4 mg por pintinho ou 130 ml em bags de 1.600 ml.

Tanto os lotes vacinados quanto os não vacinados, estavam divididos em nove granjas.

### 3.2.2 Estrutura

A estrutura dos galpões era composta por fundação com estacas e blocos de concreto moldado no local. A infra-estrutura com vigas de baldrame e pilares de concreto, superestrutura com vigas de madeira, cobertura com estrutura em madeira sob telhas de barro, fechamento com alvenaria em tijolos de 6 furos e tela malha 2,5 com contra piso de concreto alisado, portas em madeira, pintura em cal, tubulações de diâmetro 25 e 50mm vinda da fonte (fonte profunda ou poço artesiano) para uma caixa d'água de 10.000 litros, e da rede de esgoto de diâmetro 50 e 100mm que vão para a fossa séptica. As granjas tinham de dois a oito aviários em metragem variadas de 100X12, 140X12 e 180X13.

A estrutura da portaria é composta por fundação com estacas e blocos de concreto moldado no local, a infra-estrutura com vigas de baldrame e pilares de concreto, e a superestrutura com vigas de madeira, cobertura com estrutura em madeira sob telhas de barro, fechamento com alvenaria em tijolos de seis furos e tela malha 2,5 com contra piso de concreto alisado, portas e janelas em metal, pintura em cal, tubulações de diâmetro 25 e 50mm vinda de uma caixa d'água de 10.000 litros e rede de esgoto de diâmetro 50 e 100mm, que vão para a fossa séptica.

### 3.2.3 Manejo adotado nas granjas de matrizes em produção, quanto à biossegurança e manejo geral

O Manejo adotado para a Granja Matrizeira, no âmbito da biossegurança e medidas sanitárias, inicia-se pelo processo de higienização e desinfecção dos materiais (estrutura e equipamentos com uso de detergentes, soda cáustica e desinfetantes).

No galpão, a lavagem e desinfecção ocorrem em duas etapas: a higienização com verificação da limpeza, através de um check list (PO) e a desinfecção com a

confirmação, por laudo de suabe de arrasto em superfície, para *Salmonella*, principalmente onde se observava algum tipo de sujidade. A execução das atividades é efetuada com o auxílio do uso de bomba à jato, de alta pressão, lavando e desinfetando a parte interna superior, laterais (paredes, cortinas, telas e pés-direitos), piso interno, piso externo (calçadas), equipamentos (ninhos, comedouros, silo, etc.) e a portaria.

Para as caixas de água e tubulações, a lavagem ocorre com uso de detergente neutro e esfregação onde é possível, posteriormente, o enxágüe. Já a desinfecção ocorre por adição de desinfetantes mantido na caixa e tubulações por 48 horas antes do enxágüe, concluindo com a certificação da qualidade da água, por laudo de análise.

Após a desinfecção, instala-se na granja o controle de fluxo de vazão sanitário para todos que entram na área limpa, com a seqüência da planilha específica de controle e registro de visita; contudo, não considera os colaboradores do setor. Também são realizadas, freqüentemente, visitas fiscais nas residências dos colaboradores das granjas, para garantir que não há criações de animais que possam disseminar patógenos às aves.

A ração é produzida na fábrica de ração da empresa, sendo uma fábrica para matrizes e outra para frangos de corte. A matéria prima é recebida, e, se estiver dentro dos padrões operacionais (PO's) é descarregada e coletada amostras para análise laboratoriais, ficando armazenada na fábrica com todos os dados da nota fiscal, fornecedor, lote interno e etc. Esta matéria prima e outros ingredientes, que compõem a ração, são armazenados para posteriormente ser processados. Quando a ração está pronta é armazenada, em silos; e carregada em caminhões, destinados, única e exclusivamente, para o transporte destas rações até as granjas, sendo lavados e desinfetados toda vez que vão à granja, seguindo o fluxo (roteiro de entrega) que já é pré-estabelecido. A fábrica segue um programa rígido de controle de pragas (ratos, insetos e etc), sendo sempre acompanhado pelo biólogo da empresa.

Os colaboradores que adentram as instalações passam pelo processo de higienização: retirando a roupa em uma sala, banhando-se em outra e enxugando-se e vestindo as roupas da granja, em outra sala. Considera-se uma atividade necessária a toda saída para a área suja e visita a composteira. Os veículos, que entram na granja, são desinfetados com amônia em área de desinfecção de veículos ou materiais; e os equipamentos são fumigados com paraformol, em sala de fumigação.

O alojamento das aves instiga os controles de entrada e armazenamento dos insumos como ração, caixas, bandejas de ovos e etc. Portanto, os silos de

armazenamento são limpos por varreduras e fumigados com paraformol semanalmente. As caixa e bandejas de ovos são fumigadas ou lavadas com amônia antes do uso.

Nos galpões, as áreas de serviços e a área de produção são limpos várias vezes ao dia, por retirada de resíduos de ovos, ração e de mortalidades; destinados à recipientes adequados onde são armazenados até o final do dia, quando são descartados na área de descarte ou na composteira. Com o enchimento das células da composteira, mantemos a ela cheia por 90 dias, em compostagem, para retirada do adubo, por compartimento externo, na área suja da granja.

O Plano de Gerenciamento Ambiental baseia-se na identificação dos resíduos gerados na granja e o destino correto para os grupos recicláveis orgânicos e inorgânicos como: cama, aves mortas, rejeitos de alimentos, rejeitos de rações, embalagens de produtos e descartes de materiais ou equipamentos. Também, no uso consciente da água para banhos, processos de limpeza e desinfecção de caminhões e estruturas.

Os recicláveis inorgânicos são destinados à central de separação de resíduos, instalada na empresa; e os orgânicos, após o processo de biodigestão ou compostagem, são destinados, como adubo, nas lavouras. Os resíduos líquidos são tratados nos locais, por sistema de tratamento de efluentes e neutralização das moléculas impactantes ao ambiente. Os ovos rejeitados na granja, são destinados à fossa séptica. Os ovos incubáveis são classificados em dois graus de qualidade: os bons, tipo A, e os ovos de cama, sendo todos desinfetados por imersão antes do armazenamento.

Em relação às barreiras naturais são utilizados reflorestamentos com espécies exóticas que possuem rápido crescimento, por exemplo: o eucalipto. Sua escolha leva em conta o desenvolvimento de copa, no caso, conduzido com os espaçamentos entre as árvores necessários. Considera-se barreira “alta” os reflorestamentos com eucalipto, sempre tomando o cuidado de plantar no mínimo (07) sete linhas no espaçamento 3 X 2, e fazendo o plantio das mudas alternados entre as linhas. Sempre que possível será utilizada barreiras com arbustos naturais como: pingo d’ouro, Sansão do Campo, hibiscus e cipreste fazendo, assim, a barreira “baixa” da granja.

Segundo o processo de rastreabilidade, os ovos que são transferidos para o Incubatório são transportados em caixas de plástico ou de papelão com 240 e/ou caixas de papelão, com capacidade de 360 ovos cada uma; ou carrinhos de incubação com capacidade de 3456 ovos e identificados de qual granja e data de postura, por meio de uma placa de identificação que é colocado em cada uma das caixas. Em cada caixa, ou carrinho, um ovo é marcado à lápis com o número do código reduzido e a data de

postura. Os ovos recebidos no Incubatório são armazenados na Sala de Estoque, que é específica.

Na classificação, os ovos, o número dos códigos reduzidos, a data do nascimento e o número da classificadora são marcados em 1 ou 2 ovos, por bandeja, do lado direito do carrinho. Estas identificações serão acompanhadas até o nascedouro dos pintos.

A cada incubação é feita conferência do que foi lançado no Sistema Avesoft com o físico. Após a permanência em média de 19 dias na Incubadora, os ovos são transferidos para o nascedouro.

#### 3.2.4 Vacinação

A vacinação inativada de *Salmonella enteritidis* era feita na fase de recria, com oito e 19 semanas de idade. Os frascos de vacina eram retirados da geladeira um dia antes da aplicação. Doze horas antes da aplicação eram acondicionados, esses frascos, em banho-maria na temperatura de 45<sup>0</sup> C. Fazia-se a calibragem da seringa a cada 100 aplicações, para aferir a dosagem que estava sendo introduzida na ave, para confirmar a dose de 0,5 ml/ave.

Em toda a partida da vacina era verificada a emulsão (veículo) da vacina, com o seguinte teste: pingava-se uma gota da vacina em um recipiente com água; e a emulsão não poderia se dispersar na água, caso acontecesse descartava-se a vacina.

Usavam-se agulhas hipodérmicas 10x15 mm e descartavam-se as agulhas a cada 500 aplicações.

A aplicação da vacina tinha que ficar entre a primeira camada muscular, denominado músculo peitoral torácico e a segunda camada, denominada músculo sassami. Era importante que a vacina ficasse neste local para diminuir a reação inflamatória provocada por ela.

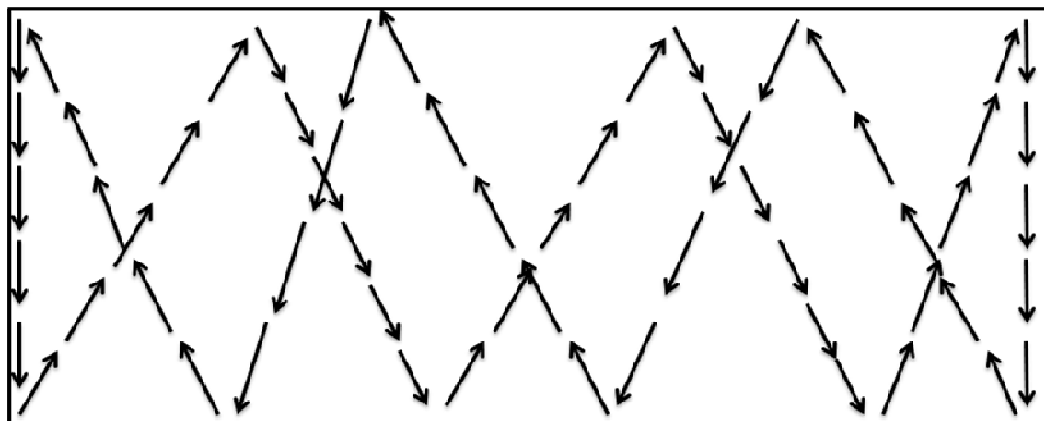
#### 3.2.5 Monitorias nas granjas de matrizes

A empresa seguia o PNSA e também fazia coletas de rotina nas granjas a cada cinco semanas, para *Salmonella*, *Mycoplasma Gallisepticum* e *Mycoplasma Synoviae*. As amostras eram mandadas para um laboratório terceirizado, registrado e certificado pelo MAPA para controle de salmoneloses e micoplasmoses. A coleta para a monitoria de *Salmonella* era feita, na grande maioria das vezes, com suabes de arrasto: sendo dois

suabes por aviário que eram arrastados pela cama em forma de X, conforme figura 1. Também eram feitos suabes de cloaca, com um cotonete para cada três aves, totalizando 10 cotonetes por aviário, coletado sempre em cinco pontos do aviário aleatoriamente.

Durante a recria e produção dos lotes vacinados para *Salmonella* Enteritidis, não foi isolado esta bactéria através das monitorias realizadas nas granjas.

Figura 1 – Forma de trajeto de suabe de arrasto nos aviários em forma de X.



### 3.3 Incubatório

#### 3.3.1 Biosseguridade

Todos os colaboradores, obrigatoriamente, tinham que tomar banho de cinco minutos para adentrar no incubatório, tendo um rigoroso controle sanitário. Todo material que entrasse no incubatório, tinha que ser fumegado. Os colaboradores não podiam entrar com anel, aliança, brinco, pulseiras, celulares e todos e quaisquer apetrechos ou adornos que não fizessem parte da área de produção.

#### 3.3.2 Monitorias para Salmonella

As monitorias para *Salmonella* eram feita, na grande maioria dos lotes, em ovo bicados e pintinhos natimortos, coletando-se um saco com 10 ovos bicados e 10 pintinhos natimortos. As amostras eram mandadas para um laboratório terceirizado, registrado e certificado pelo MAPA para controle de salmoneloses e micoplasmoses.



### 3.3.3 Incubação

Os lotes que eram suspeitos de positivos para *Salmonella*, incubavam-se em máquinas separadas, desta forma, nunca se cruzava lotes positivos com lotes negativos, dando segurança no que tange à contaminação cruzada.

### 3.3.4 Coleta dos ovos bicados e pintinhos natimortos

No incubatório eram coletados ovos bicados e pintinhos natimortos de lotes não vacinados (tratamento 1) e de lotes Vacinados (tratamento 2). Nessa coleta, os ovos e os pintinhos natimortos, eram colocados em sacos plásticos e, posteriormente, acondicionados em caixas de isopor com gelo em gel (cliogel<sup>®</sup>) e enviada ao laboratório para isolamento de *Salmonella*. Não eram misturados lotes de outras origens, ou seja: as máquinas incubavam somente os lotes do tratamento 1 e do tratamento 2.

O ideal era que se fizesse, no mínimo, 20% de coletas nestes lotes. Mas por razões econômicas, a empresa não autorizou estas análises. Foi autorizado fazer 0,05% de amostra de ovos bicados e 0,05% de pintinhos natimortos, perfazendo um total de 850 amostras para o tratamento 1 e 850 amostras para o tratamento 2.

## 3.4 Frangos de corte

### 3.4.1 Coleta dos suabes de arrasto

Foram avaliados suabes de arrasto coletados entre 21 e 30 dias de idade, correspondendo a uma amostragem aleatória de 20% dos lotes de frangos de corte da empresa, durante o período descrito anteriormente, sendo um suabe por aviário. Isto foi realizado tanto para lotes provenientes de matrizes vacinadas como para lotes provenientes de matrizes não vacinadas. Os suabes usados foram confeccionados com gaze estéril e umedecidos com água peptonada a 0,1%. Por um barbante na extremidade são arrastados no galpão em forma de X (Figura 1), desta forma, em 80% do aviário era passado o suabe (tabela 1). Este suabe era embalado em pote estéril para envio refrigerado, no mesmo dia, ao laboratório. Para isolamento de salmonela o laboratório usou metodologia convencional, conforme Instrução Normativa 126 do MAPA (IN 126 MAPA, 1995).

As amostras eram mandadas para um laboratório terceirizado, registrado e certificado pelo MAPA para controle de salmoneloses e micoplasmoses.

### **3.5 Análise estatística dos resultados**

Uma vez que os dados são constituídos de observações de campo, sem um delineamento específico, foi feita uma análise descritiva dos dados. Optou-se pela utilização do teste não paramétrico de qui-quadrado ( $\chi^2$ ) e por colocar os resultados em gráficos e tabelas, com o intuito de facilitar a análise e a discussão.

### **3.6 Estatística descritiva**

Como as variáveis isolamento de *Salmonella* sp.e os tratamentos 1 (aves provenientes de matrizes não vacinadas) e 2 (aves provenientes de matrizes vacinadas) são dicotômicas ou binárias (sim/não, presença/ausência), optou-se pela utilização do teste não paramétrico de qui-quadrado ( $\chi^2$ ) para avaliar se a frequência esperada quanto a presença de *Salmonella* diferiu da frequência observada após a realização dos tratamentos. O nível de significância considerado foi 5%. As análises foram realizadas no programa estatístico Epi Info versão 7 (CDC, 2011).

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram coletados e analisados ovos bicados oriundos do incubatório provenientes de matrizes não vacinadas (T1) e de matrizes vacinadas (T2), mostrando a presença e ausência de *Salmonella* e total analisado na tabela 2.

Tabela 2 – Tabela de Contingência (2x2) – Material analisado: Ovos bicados oriundos do incubatório de lotes não vacinados e vacinados para *Salmonella* Enteritidis.

Tratamentos	Presença de <i>Salmonella</i> sp	Ausência de <i>Salmonella</i> sp	Total
Provenientes de matrizes não vacinadas (T1)	288	562	850
Provenientes de matrizes vacinadas (T2)	10	840	850
Total	298	1402	1700

$$\chi^2 = 314,4664 \text{ (P=0,000)}$$

Houve diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos 1 e 2 (P=0,000), ou seja, os ovos bicados originados de aves provenientes de matrizes vacinadas apresentaram menor frequência de isolamento quando comparados aos ovos bicados de lotes não vacinados.

Foram coletados e analisados pintinhos natimortos oriundos do incubatório provenientes de matrizes não vacinadas (T1) e de matrizes vacinadas (T2), mostrando a presença e ausência de *Salmonella* e total analisado na tabela 3.

Tabela 3 – Tabela de Contingência (2x2) – Material analisado: Pintinhos natimortos provenientes do incubatório dos lotes não vacinados e vacinados para *Salmonella* Enteritidis.

Tratamentos	Presença de <i>Salmonella</i> sp	Ausência de <i>Salmonella</i> sp	Total
Provenientes de matrizes não vacinadas (T1)	210	640	850
Provenientes de matrizes vacinadas (T2)	16	834	850
Total	226	1474	1700

$$\chi^2 = 192,0642 \text{ (P=0,000)}$$

Houve diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos 1 e 2 (P=0,000), ou seja, os natimortos originados de aves provenientes de matrizes vacinadas apresentaram menores frequência de isolamento quando comparados aos natimortos de lotes não vacinados.

Foram coletados e analisados suabes de arrasto em aviários provenientes de matrizes não vacinadas (T1) e de matrizes vacinadas (T2), mostrando a presença e ausência de *Salmonella* e total analisado na tabela 4.

Tabela 4 - Tabela de Contingência (2x2) – Material analisado: Suabe de arrasto em aviários de frangos de corte dos lotes não vacinados e vacinados para *Salmonella* Enteritidis.

Tratamentos	Presença de <i>Salmonella</i> sp	Ausência de <i>Salmonella</i> sp	Total
Provenientes de matrizes não vacinadas (T1)	22	480	502
Provenientes de matrizes vacinadas (T2)	6	469	475
Total	28	949	977

$$\chi^2 = 8,5307 (P=0,003)$$

Houve diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos 1 e 2 (P=0,003), ou seja, os suabes de arrasto originados de aves provenientes de matrizes vacinadas apresentaram menor frequência de isolamento quando comparados aos suabes de lotes não vacinados.

Percentual de positividade em ovos bicados e pintinhos natimortos de matrizes provenientes de matrizes não vacinadas (T1) e de matrizes vacinadas (T2), mostrando a presença e ausência de *Salmonella* e percentual na tabela 5.

Tabela 5 – Material analisado: Ovos bicados e pintinhos natimortos de aves não vacinadas e vacinadas para *Salmonella* Enteritidis em percentagem.

	Aves provenientes de matrizes não vacinadas.		Aves provenientes de matrizes vacinadas.	
	Positivas/total	Percentual	Positivas/total	Percentual
Ovos bicados	288/850	(33,88%)	10/850	(1,17%)
Pintinhos natimortos	210/850	(24,70%)	16/850	(1,88%)

Esta tabela mostra que se conseguiu recuperar a *salmonella* nas progênes dos lotes não vacinados e que estas foram superiores às dos lotes vacinados, tanto em ovos bicados 33,17% X 1,17%, como em pintinhos natimortos 24,70% X 1,88%.

Estes dados também comprovam que a vacina de *Salmonella* foi eficaz, concordando com os dados do trabalho do Inoue *et al.* (2006).

Em 10% dos casos de positividade em lotes não vacinados, ou 85 amostras, foram feito tipificação conforme Instrução Normativa do MAPA N<sup>o</sup> 126 de 1995. Destas 85 amostras 49 eram positivas para *salmonella* do grupo D, representando 57,64% das tipificações e 42,36 eram *salmonelas* spp.

Percentual de lotes positivos para *Salmonella* através de suabes de arrasto coletados em aviários de frango de corte oriundos de matrizes não vacinadas (T1) e matrizes vacinadas (T2), sendo o total representado na tabela 6.

Tabela 6 – Material analisado: Suabes de arrasto em lotes de frangos de corte não vacinados e vacinados para *Salmonella* Enteritidis, percentual de lotes positivos.

Tratamento	Número de suabes	Número de lotes positivos	Percentual de lotes positivos (%)
Tratamento 1	502	22	4,38
Tratamento 2	475	6	1,26

Tratamento 1: Lotes originados de matrizes não vacinadas.

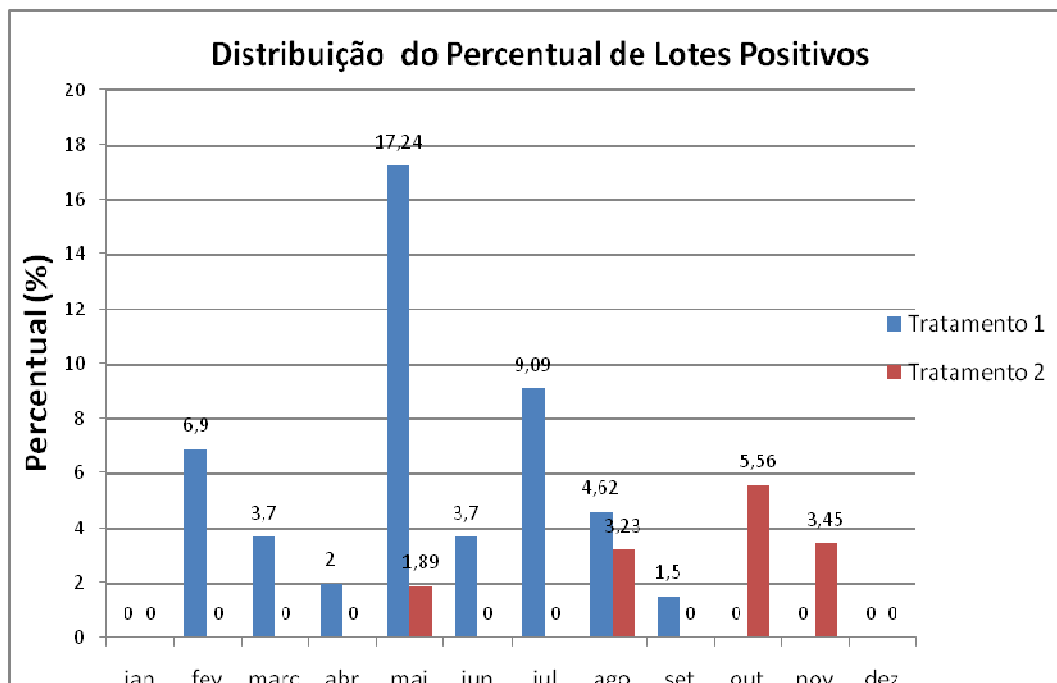
Tratamento 2: Lotes originados de matrizes vacinadas.

Como se pode observar na tabela 1, o percentual de contaminação dos lotes originados de matrizes vacinadas foi de 1,26%. Este dado é menor do que o percentual de positividade dos lotes originados de matrizes não vacinadas, que foi de 4,38%. Isto indica a eficiência e o benefício da vacina feita nas matrizes. A vacina induz a produção de anticorpos, os quais passam para a progênie e diminuem a contaminação dos pintinhos cujo resultado pode ser percebido até próximo a idade de abate com menor isolamento de salmonela dos frangos. Estes achados concordam com os resultados observados por Timms, Marshal e Breslin (1994), Woodward *et al.* (2002) Gama *et al.* (2003), Gast (2003) e Inoue *et al.* (2006) que também observaram diminuição de salmonela com o uso de vacina nas matrizes.

Bacterinas oleosas, principalmente em matrizes, contribuem para o controle da Salmonelose e diminuem a pressão infectiva da *Salmonella* Enteritidis (BACK, 2002). As progênies de reprodutoras vacinadas contra *Salmonella* Enteritidis, vacina inativada, mostraram-se mais resistentes à infecção pela presença de anticorpos maternos. Esta observação reafirma os resultados observados neste experimento.

Percentagem de lotes positivos de frangos de corte em suabe de arrasto dos lotes oriundos de matrizes não vacinadas (T1) e de matrizes vacinadas (T2).

Gráfico 1 – Distribuição da infecção dos lotes de frangos de corte por *Salmonella* nos tratamentos 1 e 2.



Tratamento 1: Lotes não vacinados para *Salmonella* Enteritidis

Tratamento 2: Lotes vacinados para *Salmonella* Enteritidis

Neste gráfico podemos observar que a percentagem de lotes positivos no tratamento 1 foi superior ao do tratamento 2, coincidindo com o uso da vacina nas matrizes. Por outro lado, ele também nos mostra que a recuperação de salmonela não é absolutamente homogênea entre os meses. Esta variação depende de muitos fatores como biossegurança e até tratamento para outras enfermidades, que também podem diminuir *salmonella*.

A vacina é mais uma boa ferramenta no controle da salmonela, mas não é apenas a introdução desta, em matrizes, que o problema de salmonela desaparecerá. Isto é o que mostrou a ocorrência no gráfico 1, pois casos ocorreram, mesmo, em progênie de lotes vacinados. Devemos considerar que a vacina ajuda no controle, mas práticas de biossegurança, manejo adequado e treinamento das pessoas envolvidas, direta e indiretamente com o processo produtivo, também são necessários para que se obtenha o controle ou uma redução desta bactéria.



É lícito supor que, tendo em vista a proteção homóloga da vacina, que os eventuais remanescentes sejam de sorovares de grupos distintos do grupo D.

Segundo Rodrigues (2011), existe uma proteção cruzada para os sorovares, mas não se consegue mensurar esta proteção. Sorovares pertencentes ao mesmo grupo podem ofertar títulos, porém, inferiores para aqueles específicos.

A empresa optou por não fazer tipificação, tendo em vista que estudos anteriores mostravam que o problema era com *Salmonella* do grupo D. Tendo em vista que a única vacina permitida para matrizes de corte é a inativada de *Salmonella* Enteritidis, optou-se em testar esta vacina.

Estes dados também nos mostram que a vacina não erradica 100% de positividade dos lotes, porém, a vacina quando associada a boas técnicas de biossegurança reduz o percentual total e, com isso, evita a ocorrência de surtos altos ao longo dos anos.

Segundo Back (2010), a infecção em aves adultas, na maioria das vezes, é inaparente, mas algumas amostras de *Salmonella* Enteritidis podem causar anorexia, diarreia, e redução de produção de ovos. Apesar de a transmissão vertical da *Salmonella* Enteritidis não ter sido demonstrada de maneira clássica, existem investigações que mostram que a cada 10.000 ovos de um lote positivo, pode se isolar este organismo do conteúdo interno de dois a três ovos. Isto indica que algum pinto pode nascer infectado. Isto foi observado em algumas análises extras, feitas no incubatório de lotes que tinham um histórico de positividade, concordando com a observação de Back.

Os anticorpos da ave reprodutora (matrizes de corte) são transferidos através da gema para a corrente circulatória do embrião (frango de corte) na forma de Imunoglobulinas G (IgG) (HASSAN e CURTIS, 1996; METHNER e STEINBACH, 1997). A gema dos ovos de aves vacinadas é rica em IgG e a sua administração em aves sensíveis aumenta a resistência a infecção por *Salmonella* Enteritidis (GURTLER *et al.*, 2004; BARMAN *et al.*, 2005). Aves vacinadas contêm anticorpos no oviduto (MIYAMOTO *et al.*, 1999). Os anticorpos na forma de imunoglobulina A (IgA) e Imunoglobulinas M (IgM) são secretados no oviduto das aves reprodutoras e são absorvidos pela albumina na passagem do ovo. Esses anticorpos se difundem no líquido amniótico e são ingeridos pelo embrião atingindo o trato intestinal (TIZARD, 2002). A IgA, presente no intestino tem um papel significativo na imunidade adquirida contra *Salmonella*, uma vez que ela inibe a aderência e a colonização da bactéria na mucosa

intestinal, que é o sítio primário da infecção (MAJUMDAR e GHOSE, 1981; MC GHEE *et al.*, 1992; MUIR *et al.*, 1998), concordando com os resultados deste trabalho.

A imunidade passiva conferiu maior resistência a infecções por *Salmonella* Enteritidis, mas observou-se em alguns lotes vacinados, ainda que em menor quantidade do que os lotes não vacinados, a positividade para a *Salmonella* Enteritidis. A explicação mais provável é falha de biosseguridade das granjas ou falha vacinal, mas não se pode deixar de mencionar que os anticorpos circulantes são incapazes de agir contra as salmonelas localizadas no interior de macrófagos. Completando-se a imunidade humoral por meio da utilização de vacinas vivas, haveria um estímulo da imunidade celular e conseqüentemente, ativação dos macrófagos com fatores de proteção contra patógenos intracelulares (KAUFMANN, 1993; BABU *et al.*, 2003; INOUE, 2006).

A administração da vacina inativada mostrou uma proteção nas progênies, diminuindo significativamente a sensibilidade da progênie a infecções precoces pela bactéria, concordando com os resultados observados neste trabalho (VAN IMMERSSEEL *et al.*, 2005 e INOUE 2006).

Baseados nos resultados deste trabalho e na experiência de campo, posso afirmar; que o uso de vacina oleosa em matrizes de corte para o controle de *Salmonella* Enteritidis na progênie, é uma ferramenta útil, contribuindo significativamente na redução desta bactéria nos frangos de corte.

O estudo evidenciou, através da proteção dos anticorpos maternos, a redução do isolamento de *Salmonella* Enteritidis em ovos bicados, pintos natimortos no incubatório e suabe de arrasto em granjas de frangos de corte. Levando em consideração que a erradicação de *Salmonella* Enteritidis é um processo improvável e que o uso de vacina viva de *Salmonella* Enteritidis não é permitida para matrizes de corte, resta o controle do agente por meio de imunização com vacinas inativadas sendo uma medida de extrema importância, pois além de proteger as aves contra a doença clínica ela reduz a contaminação de produtos destinados ao consumo humano.

Apesar de existir uma diferença numérica em favor aos lotes vacinados quando comparados com lotes não vacinados, entendemos que novos estudos deverão ser realizados com o intuito de comparar, no mesmo ano ou no mesmo período, os lotes vacinados com os não vacinados. Sabemos que as salmonelas, muitas vezes, podem aparecer dependentes de fatores externos, variáveis, a considerar um período e outro de tempo, clima, etc.

## 5. CONCLUSÕES

1 – O uso de vacina inativada de *Salmonella* Enteritidis em adjuvante oleoso em matrizes de corte mostrou uma diminuição significativa de contaminação em progênes, quando analisadas em ovos bicados e pintinhos natimortos no incubatório.

2 – O uso da vacina inativada mostrou uma redução na contaminação nas granjas dessas progênes de matrizes de corte, quando analisados em suabes de arrasto entre 21 e 30 dias.

3 – Pode-se observar que no incubatório, tanto para ovos bicados quanto para pintinhos natimortos, que não receberam antibioticoterapia via subcutânea, ocorreu uma redução significativa de positividade para *Salmonella* do grupo D, mais uma vez comprovando a efetividade da vacina inativada de *Salmonella* Enteritidis.

4 – A vacina de *Salmonella* Enteritidis inativada em adjuvante oleoso é mais uma ferramenta útil no controle desta bactéria, porém, boas práticas de biossegurança em todo o ciclo de produção, são indispensáveis para um bom controle desta enfermidade.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDREATTI R.L.F. *et al.* Efeito da microbiota cecal e do *Lactobacillus salivarius* inoculados *in ovo* em aves desafiadas com *Salmonella enterica* sorovar Enteritidis. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, v.58, n.4, 2006.
- BABU, U. *et al.* Effects of live attenuated and killed *Salmonella* vaccine on T-lymphocyte mediated immunity in laying hens. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. Amsterdam, v.91, p.39-44, 2003.
- BACK, A. Salmonelose. **Manual de Doenças das Aves**. Cascavel: Alberto Back, 1. ed., 2002, p. 62-76.
- BACK, A. Salmonelose. **Manual de Doenças das Aves**. Cascavel: Alberto Back, 2. ed., 2010, p. 174-192.
- BARBOUR, E.K. *et al.* Evaluation of bacterin containing three predominant phage types of *Salmonella* Enteritidis for prevention of infection in egg-laying chickens. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v.54, n.8, p. 1306-1309, 1993.
- BARMAN, T. K.; SHARMA, V. D.; KUMAR, S. Protective efficacy of maternal antibodies induced by *Salmonella* toxoid (vaccine). **Indian Journal of Experimental Biology**. New Delhi, v. 43, n. 2, p. 163-166, 2005.
- BARNES, E.M. *et al.* The intestinal flora of the chicken in the período 2 to 6 weeks of age with particular reference to the anaerobic bacteria. **British Poultry Science**, Abingdon, v.13, p. 311-326, 1972.
- BARROW, P.A. Experimental infection of chickens with *Salmonella* Enteritidis. **Avian Pathology**. Cambs, v.20, n.1, p. 145-153, 1991.
- BARROW, P.A.; HUGGIS, M.B.; LOVELL, M.A.; SIMPSON, J.M. Observations on the pathogenesis of experimental *Salmonella* Typhimurium infection in chickens. **Research Veterinary Science**. London, v.42, p. 194-199, 1987.
- BARROW, P.A. Immunity to *Salmonella* and other bacteria. In \_\_\_\_\_. DAVISON, T.F.; MORRIS, T.R.; PAYNE, L.N. **Poultry immunology**. (Poultry Science Symposium Series). Berkshire: Carfax Publishing Company, 1995, v. 24, p. 243-263
- BARROW, P.A. *et al.* Detection of *Salmonella* infection by ELISA. **The Veterinary Record**, London, v.125, p.586, 1989.
- BARROW, P.A.; LOVELL, M.A. Experimental Infection of egg-laying hens with *Salmonella* Enteritidis phage type 4. **Avian Pathology**. Cambs, v.20, n.2, p. 335-338, 1991.

BARROW, P.A. Monitorias e Controle das Salmonelas em reprodutoras na Europa. In. CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1998, Campinas. **Anais...** Campinas: FACTA, p.1-7, 1998.

BARROW, P.A. *Salmonella* em avicultura – Problemas e novas idéias sobre possibilidades de controle. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**. Campinas, v.1, n.1, 1999, p. 9-16.

BARROW, P.A. *Salmonella* infections: immune and non-immune protection with vaccines. **Avian Pathology**. Huntingdon, v.36, p.1-13. 2007.

BARROW, P.A. The Paratyphoid *Salmonellae*. **Revue Scientifique et Technique OIE (Office International des Epizooties)**. Paris, v.19, n.3, p. 351-375, 2000.

BARROW, P.A.; WALLIS, T.S. Vaccination against *Salmonella* infections in food animals: rationale, theoretical basis and practical application. In\_\_\_\_\_. WRAY, A.; WRAY, C. *Salmonella* in domestic animals. **CAB International**. Oxford, p. 323-339, 2000.

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

BAUMER, A.J. *et al.* Contribution of horizontal gene transfer and deletion events to development of distinctive patterns of fimbrial operon during evolution of *Salmonella* serotypes. **Journal of Bacteriology**. Washington, v.179, n.2, p. 317-322. 1997.

BERCHIERI JÚNIOR, A. *et al.* Salmonella em um abatedouro avícola. **Ars Veterinária**. Jaboticabal, v.3 n.1, p. 81-87, 1987.

BERCHIERI JÚNIOR, A. Salmoneloses aviárias. In\_\_\_\_\_. BERCHIERI JÚNIOR, A.; A.; MACARI, M. **Doença das Aves**. Campinas: FACTA. 1.ed., p. 185-195, 2000.

BERCHIERI JÚNIOR, A. Salmoneloses aviárias. In\_\_\_\_\_. BERCHIERI JÚNIOR, A.; A.; MACARI, M. **Doença das Aves**. Campinas: FACTA. 2. ed., p. 435-454, 2009.

BERCHIERI JÚNIOR A.; BARROW, P.A. O desenvolvimento da microbiota intestinal em pintos de corte: pros e contra. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1998, Campinas, **Anais...** Campinas: FACTA, 1998 p. 183-190.

BERMUDEZ, A.J.; STEWART-BROWN, B. Disease prevention and diagnosis. In: CALNEK, B.W.; BARNES, H.J.; BEARD, C.W. (Ed.). **Diseases of Poultry**. 11<sup>th</sup>. Ed. Ames: Iowa University Press, cap.1, p. 17-55, 2003.

BERNARDO, F.M.A.; MACHADO, J.C.C. Prevalence of *Salmonella* in chicken carcasses in Portugal. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**. Lisboa, v.84, n.489, p. 31-45, 1989.

BYRD, J.A. *et al.* Effect of lactic acid administration in the drinking water during preslaughter feed withdrawal on *Salmonella* and *Campylobacter* contamination of broilers. **Poultry Science**, Champaign, v.80, n.3, p.278-283, 2001.

BOKANY JÚNIOR, R. P.; STEPHENS, J. F.; FOSTER, D. N. Isolation and characterization of salmonella from brailer carcasses or parts. **Poultry Science**. Champaign, v.69, p. 592-598, 1990.

BORGES, K.A.; PINTO, A.T.; SILVA, E.N. Efeito da oscilação de temperatura e umidade do ar no comportamento da *Salmonella* Enteritidis em ovos de galinhas contaminados. **Acta Scientiae Veterinariae**. Porto Alegre, v.37, p. 750-758, 2009.

BRASIL, 2003b. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA/Secretaria de Defesa Agropecuária. Programa de Redução de Patógenos Monitoramento Microbiológico e Controle de *Salmonella sp* em Carcaças de Frangos e Perus. **Diário Oficial da União**. Brasília, Instrução Normativa Nº 70 de 06 de outubro de 2003 p. 9-10. Seção 1.

BRASIL, 1995. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA/Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria nº 126, de 03 de novembro de 1995. Normas de Credenciamento e Monitoramento de Laboratórios de Diagnóstico das Salmoneloses Aviárias (S. Enteritidis, S. Gallinarum, S. Pullorum e S. Typhimurium). Disponível em <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>> Acesso em fevereiro de 2012.

BRASIL. Programa Nacional de Monitoramento de Prevalência e da Resistência Bacteriana em Frangos. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)**. Brasília, DF, 2008. 186p.

BRENNER, F.W *et al.* *Salmonella nomenclature*. **Journal of Clinical Microbiology**. Georgia, v. 38, n. 7, 2000, p. 2465-2467.

BRITTO, J.R.F. **A study of the colonization of young chickens by *Salmonella***. Thesis (PhD) – University of Bristol, England, 1988.

BUMSTEAD, N.; BARROW, P.A. Resistance to *Salmonella Gallinarum*, *S. Pullorum*, and *S. Enteritidis* in inbred lines of chickens. **Avian Diseases**. Kennett Square, v. 37, n.1, 1993, p. 189-193.

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

CARDINALE, E. *et al.* Prevalence of *Salmonella* and *Campylobacter* in retail chicken carcasses in Senegal. **Revue d'Élevage et de Médecine Veterinaire des Pays Tropicaux**. Montpellier, v.56, n.1/2, 2003. p.13-16.

CDC. Qui Quadrado. Disponível em <<http://www.cultura.ufpa.br/dicas/biome/bioqui.htm> > Acesso em fevereiro de 2012.

- CHADFIELD, M.S. *et al.* Comparison of intestinal invasion and macrophage response of *Salmonella Gallinarum* and other host-adapted *Salmonella* enteric serovars in the avian host. **Veterinary Microbiology**. Amsterdam, v.92, n.1/2, 2003, p. 49-64.
- CHARLTON, B.R. *et al.* S. Salmonellosis. **Avian Diseases Manual**. 6. ed. Georgia; American Association of Avian Pathologists, 2006, p. 106-114.
- COSTA, F. N. *et al.* T. Sorovares de *Salmonella* isolados de carcaças de frangos obtidos na indústria e no comércio em Jaboticabal, Estado de São Paulo, em 1996. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**. Niterói, v. 4 n. 3, 1997, p. 97 – 100.
- COSTA, F. N.; ROSSI, O. D. TAVECHIRO, A. T. Sorotipos de *salmonella* isolados de carcaças e cortes de frangos, Jaboticabal - SP, 1996. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1996 Curitiba. **Anais...** Curitiba: Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, World Poultry Science Association. 1995, p. 57.
- CUNHA NETTO, S.J. *et al.* Sorotipos de *salmonella* isoladas de carcaças de frangos de corte, em três abatedouros em Belo Horizonte - MG, 1974. **Arquivos da Escola de Veterinária da UFMG**. Belo Horizonte, v.28, n.2, p. 125-129, 1976.
- DADRAS, H.; HESKETH, R.; TAYLOR, D.J. Egg yolk antibody detection in identification of *Salmonella* infected poultry. **The Veterinary Record**, London, v.126, n.9, p.219, 1990.
- DARWIN, K.H.; MILLER, V.L. Molecular basics of the interaction of *Salmonella* intestinal mucosa. **Clinical Microbiology Reviews**. Washington, v.12, n.3, p. 405-428, 1999.
- DAVIES, R.H.; BRESLIN, M. Persistence of *Salmonella* Enteritidis Phage Type 4 in the environment and arthropod vectors on an empty free-range chicken farm. **Environmental Microbiology** Oxford, v.5, n.2, p.79-84, 2003.
- DAVISON, S. *et al.* Field observations with *Salmonella* Enteritidis bacterians. **Avian Diseases**, Kennet Square, v.43, n.4, p.664-669, 1999.
- DOMÍNGUEZ, C.; GÓMEZ, I.; ZUMALACÁRREGUI, J. Prevalence of *Salmonella* and *Campylobacter* in retail chicken meat in Spain. **International Journal of Food Microbiology**. Amsterdam, v. 72, p. 165-168, 2002.
- DOYLE, M. P.; & CLIVER, D. O. *Salmonella*. In\_\_\_\_\_. CLIVER, D. O. **Foodborne Diseases**. London: Academic Press, 1990, p. 185-204.
- EBEL, E. SCHLOESSER, W. Estimating the annual fraction of eggs contaminated with *Salmonella* Enteritidis in the United States. **International Journal Food Microbiology**. Amsterdam, v.61, p. 51-62, 2000.
- FANTASIA, M.; FILETICI, E. *Salmonella* Enteritidis in Italy. **International Journal of Food Microbiology**. Amsterdam, v. 21, p. 7-13, 1994.

- FANTASIA, M. *et al.* Italian experience in *Salmonella* Enteritidis 1978-1988: Characterization of isolates from food and man. **International Journal of Food Microbiology**. Amsterdam, v. 12, p. 353-362, 1991.
- FERREIRA, A.J.P. *et al.* Comparison of three commercial competitive exclusion products for controlling *Salmonella* colonization of broilers in Brazil. *Journal of Food Protection*, Ames, v.66, n.3, p. 490-492, 2003.
- FIGUEIREDO, D. Vigilância epidemiológica das doenças transmitidas por alimentos/RS. **Centro Estadual de Vigilância em Saúde/RS**. 2008. Disponível em <<http://www.anvisa.gov.br>> Acesso em 17 de fevereiro de 2012.
- FINLAY, B.B.; FALKOW, S. Common themes in microbial pathogenicity. **Microbiological Reviews**. Washington, v.53, n.2, p. 210-230, 1989.
- FORSHELL, L.P., WIERUP, M. *Salmonella* contaminations: A significant challenge to the global marketing of animal food products. **Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. Guide to Good Farming**. Uppsala, v.25, n.2, p. 541-554. 2006.
- FROYMAN, R.; STEPHAN, B.; DAY, C. Epidemiology of paratyphoid salmonellosis in a larger broiler integration and the application of a normal gut flora at day old, In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM *Salmonella* AND SALMONELLOSIS, 1997, Saint-Brieuc. **Anais...** Ploufragan, 1997, p.11-13.
- GAL-MOR, O. *Salmonella enterica*. The Infectious Disease Research Laboratory – Sheba Medical Center, Israel. Disponível em <<http://eng.sheba.co.il>> Acesso em 17 de fevereiro de 2012.
- GAMA, N.M.S.Q. *et al.* Avaliação da ação de bacterinas contra *Salmonella* Enteritidis em poedeiras comerciais. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, p.139, 2003. Suplemento.
- GANDOLF, C.S.; RAMOS, M.I.L. *Salmonella* sp. In meals of animal origin used for the feeding of poultry species. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.16, p.102-103, 2002.
- GAST, R. K.; BENSON, S.T. The comparative virulence for chicks of *Salmonella* Enteritidis phage type 4 isolates and isolates of phage types commonly found in poultry in the United States. **Avian Diseases**. Kennett Square, v.39, n.3, p. 567-574, 1995.
- GAST, R. K. Detecting infections of chicken with recent *Salmonella* Pullorum isolates using standard serological methods. **Poultry Science**. Champaign, v. 76, p. 17-23, 1997.
- GAST, R. K. Detection of *Salmonella* Enteritidis in experimentally infected laying hens by culturing pools of egg contents. **Poultry Science**. Champaign, v. 72, n. 2, p. 267-274, 2003.
- GAST, R.K.. Recovery of *Salmonella* Enteritidis from inoculated pools of egg contents. **Journal of Food Protection**. Des Moines, v.56, n.1, p. 21-24, 1993.



GAST, R. K. Salmonella Infections. In\_\_\_\_\_. CALNEK, B. W. **Diseases of Poultry**. 10. ed., Ames: Iowa State University, p. 97-121, 1997.

GAST, R. K. *Salmonella* infections - paratyphoid infections. In\_\_\_\_\_. SAIF, Y. M. (Ed). **Diseases of Poultry**. 12. ed., Iowa: Blackwell Publishing, p. 636-665, 2008.

GAST, R. K.; BEARD, C.W. Detection of *Salmonella* serogroup D-specific antibodies in the yolk of eggs laid by hens infected with *Salmonella* Enteritidis, **Poultry Science**, Champaign, v.70, n.5, p.1273-1276, 1991.

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.1085-1091, 1993.

GLÓŚNIKA, R.; KUNIKOWSKA, D. The epidemiological situation of *Salmonella* Enteritidis in Poland. **International Journal of Food Microbiology**. Amsterdam, v.76, p.143-150, 2002.

GREEN, S.S. *et al.* The incidence of salmonella species and serotypes in young woole chicken carcasses in 1979 as compared with 1967. **Poultry Sciences**. Champaing, v.61, p. 288-293, 1982.

GRIMONT, P.A.D.; WEILL, F.X. Antigenic Formulae of the *Salmonella* Serovars. **WHO Collaborating Center for Reference and Research on Salmonella**. France: Institute Pasteur, 2007.

GURTLER, M. *et al.* Effect of orally administrated egg yolk antibodies on *Salmonella* Enteritidis contamination of hen`s eggs. **Journal of Veterinary Medicine**, Berlin, v.72, n.3, p. 129, 2004.

HACKER, J.; CARNIEL, E. Ecological fitness, genomic islands and bacterial pathogenicity – A Dorwian view of the evolution of microbes. **European Molecular Biology Organization**. v.2, n.5, p. 376-381. 2001.

HASSAN, J.O.; CURTISS III, R. Effect of vaccination of hens with na avirulent strain of *Salmonella* Typhimurium on immunity of progeny challenged with-type *Salmonella* strains. **Infection and Immunity**, Washington, v.64, n.3, p.938-944, 1996.

HOLT, J.G. *et al.* **Bergey`s**: manual of determinative bacteriology. 9. ed. Baltimore: Williams & Wikins, p.186-187, 1994.

HORMAECHE, C. *et al.* Immunity mechanisms in experimental salmonellosis. **The biology of Salmonella**. Elmsford, p. 223-235, 1993.

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

- INOUE, Y. A. Estudo da Imunidade passiva em progênie de Aves Vacinadas Com Bacterina Contra Salmonella Enteritidis. **Dissertação de Mestrado**. Jaboticabal, v.1, p.1-50, 2006.
- KANASHIRO, A.M.I. *et al.* Serovars of *Salmonella* sp isolated from broiler chickens and commercial breeders in diverse regions in Brazil from July 1997 to December 2004. **Brazilian Journal of Poultry Science**. Campinas, v.7, n.3, p. 195-198, 2005.
- KAUFMANN, S.H. Immunity to intracellular bacteria. **Annual Review of Immunology**. Palo Alto, v.11, p. 129-163, 1993.
- JERNEKLINCHAN J. *et al.* Ocurrance of salmonellas in raw brailers and their products in Thailan. **Journal of Food Protection**. Des Moines, v.57 n.9, p. 808-810, 1994.
- JÚNIOR, B.A.; MACARI, M. **Doenças das Aves**. Campinas: D 651, p. 185-195, 2000.
- MACHADO, J.; BERNARDO, F. Prevalence of salmonella in chickens carcasses in Portugal. **Journal of Appliend Bacteriology**. New Jersey, v.69, p. 477-480, 1990.
- LAX, A.J. *et al.* Current perspectives in salmonellosis. **British Veterinary Journal**. London, v.151, n.4, p. 351-377, 1995.
- LIBBY, S.J *et al.* (Ed.) **Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals**. 3. ed. Blachwell Publishing, 2008, p. 143-167.
- LIMAWONGPRANEE, S. *et al.* Prevalence and persistence of *Salmonella* in broiler chicken flocks. **Journal of Veterinary Medical Science**. Tokyo, v.61, n.3, p. 255-259, 1999.
- LUCA, A.N.B. e KOERICH, G.M.D. Perfil epidemiológico dos surtos de DTA causados por *Salmonella* sp em Santa Catarina, Brasil, notificados no SINAM NET de 2006 a 2008. **Trabalho de Especialização em Microbiologia da PUC/PR**. Curitiba, p. 1-20, 2009.
- MAJUMDAR, A.S.; GHOSE, A.C. Evaluation of the biological properties of different classes of human antibodies in relation to cholera. **Infection and Immunity**, Washington, v.32, p.9-14, 1981.
- MANUAL TÉCNICO. **Vacinas inativadas Fort Dodge, São Paulo/SP, 2007**. Disponível em <[http://www.fortdodge.com.br/fd/aves/manuais/aves01/folheto\\_ina/pagina9.htm](http://www.fortdodge.com.br/fd/aves/manuais/aves01/folheto_ina/pagina9.htm)> Acesso em 17 de fevereiro de 2012.
- MANUAL TÉCNICO. **Vacinas Merial, Campinas/SP, 2008**. Disponível em <[http://www.merial.com.br/avicultores/produtos/gallimune\\_se\\_st/informativo\\_gallimun e.pdf](http://www.merial.com.br/avicultores/produtos/gallimune_se_st/informativo_gallimun e.pdf)> Acesso em 17 de fevereiro de 2012.
- MASTROEN, I. P.; SKEPPER, J.N.; HORMAECHE, C.E.; Effect of anti-tumor necroses factor antibodies on histopathology of primary *Salmonella* infections. **Infection and Immunity**. Washington, v.63, p. 3674-3682, 1995.

- MC GHEE, J.R. *et al.* The mucosal immune system: From fundamental concepts to vaccine development. **Vaccine**, London, v.10, p.75-88, 1992.
- MC MULLIN, P. Controle de Salmoneloses Aviárias: Experiência européia w as novas diretrizes. In: ENCONTRO MERCOLAB DE AVICULTURA, Cascavel, **Anais...** Cascavel: Mercolab, 2004, p. 13-16.
- MC MULLIN, P. Programas de monitorias de Salmonella na produção de ovos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE AVICULTURA E 270 CONFERÊNCIA, 21, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre, Brasil, p. 85-90, 2009.
- MEAD, G.C.; BARROW, P.A. A Review: *Salmonella* control poultry by competitive exclusion or immunization. **Applied Microbiology**. Washington, v.10, p. 221-227, 1990.
- MEAD, G.C. Prospects for competitive exclusion treatment to control salmonellas and other foodborne pathogens in poultry. **Veterinary Journal**. Brunswick, v.159, p. 111-123, 2000.
- METHNER, U.; BERNDT, A.; STEINBACH, G. Combination of competitive exclusion and immunization using an attenuated live *Salmonella* vaccine strain in chickens. **Avian Diseases**. Kennett Square, v.45, p. 631-638, 2000.
- METHNER, U. *et al.* Combination of vaccination and competitive exclusion to prevent *Salmonella* colonization in chickens – experimental studies - . **International Journal of Food Microbiology**. Amsterdam, v.49, n.1-2, p. 35-42, 1999.
- METHNER, U. *et al.* Comparative study of protective effect against *Salmonella* colonization in newly hatched SPF Chickens using live, attenuated *Salmonella* vaccine strains, wild-type *Salmonella* strains or a competitive exclusion product. **International Journal of Food Microbiology**, London, v.35, n.3, p.223-230, 1997.
- METHNER, U.; STINBACH, G. Efficacy of maternal *Salmonella* antibodies against oral infection of chicks with *Salmonella* Enteritidis. **Berliner und Munchner Tierarztliche Wochenschrift**. Berliner, v.110, p. 373-377, 1997.
- MIYAMOTO, T. *et al.* Evaluation of the efficacy of *Salmonella* Enteritidis oil-emulsion bacterin in na intravaginal challenge model in hens. **Avian Diseases**, Kenett Square, v.43, n.3, p.497-505, 1999.
- MORITA, Y. *et al.* Prevalence of *Arcobacter*, *Campylobacter* e *Salmonella* spp. in retail ground chicken meat. **Journal of the Japan Veterinary Medical Association**. Tokyo, v.56, n.6, p. 401-405, 2003.
- MOTA, C.C.S.; VIEIRA, H.R.A.; PUZYNA, I.P.; *et al.* Toxi-infecção alimentar por *Salmonella* Enteritidis: relato de um surto ocorrido em Curitiba-PR, Brasil/julho de 1981. **Revista Higiene Alimentar**. v.2, p.123-131, 1983.

- MOUNTZOURIC, K.C. *et al.* Evolution of the efficacy of a probiotic containing Lactobacillus, Bifidobacterium, Enterococcus, and Pedicoccus strains in promoting broiler performance and modulating cecal microflora composition and microflora activities. **Poultry Science**. Champaign, v.86, p. 309-317, 2007.
- MUERMANN, L. *et al.* Quantification and molecular characterization of *Salmonella* isolated from food samples involved in salmonellosis outbreaks in Rio Grande do Sul, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**. São Paulo, v.39, n.3, 2008, p. 529-534.
- MUIR, W.I.; BRYDEN, W.L.; HUSBAND, A.J. Comparison of *Salmonella* Typhimurium challenge models in chickens. **Avian Diseases**, Kennet Square, v.42, p.257-264.
- NAKAMURA, M. *et al.* Evolution of the efficacy of a bacterin against *Salmonella* Enteritidis infection and the effect of stress after vaccination, **Avian Diseases**, Kennett Square, v.38, n.4, p. 717-724, 1994.
- NAKAMURA, M. *et al.* The Effect of killed *Salmonella* Enteritidis vaccine prior to induced molting on the shedding of *S. Enteritidis* in laying hens. **Avian Diseases**, Kennett Square, v.48, n.1, p.183-188, 2004.
- NASCIMENTO, V.P. *et al.* Ocorrência de salmonella sp em carcaças de frangos industrialmente processadas. In: CONFERÊNCIA APINCO 1996 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1996, Curitiba. **Anais ...** Curitiba, Brasil: Fundação APINCO de Ciências e Tecnologia Avícolas, World Poultry Science Association. 1996b, p. 81.
- NASCIMENTO, V.P. *et al.* Qualidade microbiológica dos produtos avícolas. In: SIMPÓSIO GOIANO DE AVICULTURA DA ASSOCIAÇÃO GOIANA DE AVICULTURA E ESCOLA DE VETERINÁRIA UFG, 2., Goiânia. **Anais...** Goiânia, 1996, p.13-17.
- NASCIMENTO, V.P. *et al.* Salmoneloses paratíficas em avicultura: Uma revisão e situação atual. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE CIÊNCIAS VETERINÁRIAS, 15, 1996 Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: Associação Panamericana de Ciências Veterinárias. 1996c, p. s.15.1.
- NASCIMENTO, V.P., SANTOS, L.R.. *Salmonella* Enteritidis: Controle, implicações em saúde pública e na qualidade dos produtos de origem avícola. Associação Catarinense de Medicina Veterinária – Núcleo Oeste. In: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA, 6., 2005, Chapecó. **Anais...** Chapecó, p.46-57, 2005.
- OLIVEIRA, G.H.; ALMEIDA, W.A.F.; BERCHIERI JR, A. Controle da transmissão por contato de *Salmonella* entre aves de exploração comercial. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, Prêmio Lamas 1998, p.60, Suplemento.
- OLSEN, S. J. *et al.* The changing epidemiology of *Salmonella*: trends in serotypes isolated from humans in the United States, 1987-1997. **Journal of Infectious Diseases**. Chicago, v. 183, p. 753-761, 2001.

PETTERSON, J.A.; BUKHOLDER, K.M. Application of prebiotics and probiotics in poultry production, **Poultry Science**, Champaign, v.82, n.4, p. 627-631, 2003.

PLUMMER, R.A.S.; BLISSET, S.J.; DODD, C.E.R. Salmonella contamination of retail chicken products sold in the UK. **Journal of Food Protection**. Des Moines, v.58, n.8, p. 843-846, 1995.

POPOFF, M.Y.; LE MINOR, L. **Antigenic Formulas of the Salmonella Serovars**, 6. Revision. Who collaborating Centre for Reference and Research on Salmonella. Institut Pasteur, Paris, 1992.

POPOFF, M.Y.; LE MINOR, L. **Antigenic Formulas of the Salmonella Serovars**, Who collaborating Centre for Reference and Research on Salmonella. France: Institute Pasteur, 7.ed. 1997.

POPOFF, M.Y. Formules antigeniques des serovars de *Salmonella*. **Who collaborating Centre for Reference and Research on Salmonella**. France: Institute Pasteur, 8. ed. 2001.

POPPE, C. *Salmonella* Enteritidis in Canadá. **International Journal of Food Microbiology**. Amsterdam, v. 21, p. 1-5, 1994.

PRAT, S. *et al.* Tipificación fágica de aislados de *Salmonella* Enteritidis de muestras clínicas, alimentarias y avícolas en Chile. **Revista Panamericana de Salud Publica**. Washington, v. 9, n.1, p. 7-12, 2001.

PROST, E.; RIERMAN, H. Food-borne Salmonellosis. **Annual Review of Microbiology**. Palo Alto, n.21, p. 495-528, 1967.

REITER, M.G.R. *et al.* Prevalence of *Salmonella* in a poultry slaughterhouse. **Journal of Food Protection**. Des Moines, v.70, n.7, p. 1723-1725, 2007.

RENGEL, A.; MENDOZA, S. Isolation of salmonella from raw chicken in Venezuela. **Journal of Food Protection**. Des Moines, v.47, n.3, p. 213-216, 1984.

REVOLLETO, L. Alternativas para o controle de *Salmonella*. Associação Catarinense de Medicina Veterinária – Núcleo Oeste. In: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA, 9., Chapecó. **Anais...** Chapecó, 2008, p. 95-110.

RODRIGUES, D.P. Vencendo a guerra contra a *Salmonella*. **Informativo Técnico Avícola**. São Paulo, ano 10, n.41, p.3-4, 2011.

ROY, P.; *et al.* Pathogenicity of different serogroups of avian *Salmonellae* in specific-pathogen-free chickens. **Avian Diseases**. Kennett Square. v.45, n.4, p. 922-937, 2001.

RYCHLIK, I.; LOVELL, M.A.; BARROW, P.A. The presence of genes homologous to the K88 genes *faeH* on the virulence plasmid of *Salmonella* Gallinarum. **Microbiology Letters**. Amsterdam, v.159, n.2, p. 255-260, 1998.

SAEED, A.M.; THIAGARAJAN, D.; ASEM, E. Mechanism of transovarian transmission of *Salmonella* enteric serovar Enteritidis in laying hens. ***Salmonella enteric serovar Enteritidis in humans and animal***. Ames Iowa State University Press, 1999.

SANTOS, C. H. C.; SILVA, E. N. Métodos de Diagnóstico Laboratoriais e Sorológicos. In\_\_\_\_\_. BERCHIERI Junior, a. Macari, M. **Doença das Aves**. Campinas – FACTA, 2000. Cap.3 p. 171-182.

SANTOS, D. M. S. *et al.* Salmonella em carcaças de frangos congeladas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. Rio de Janeiro, v. 20, p. 39 – 42, 2000.

SANTOS, L.R. *et al.* Phage types of *Salmonella* Enteritidis isolated from clinical and food samples, and from broiler carcasses in Southern Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. São Paulo, v.45, n.1, p. 1-4, 2003.

SEAN F.A. *et al.* Salmonella Enteritidis in Broiler Chickens, United States. **Emerging Infectious Diseases**. Atlanta, v. 12, n. 12, 2006.

SEO, K.H.; HOLT, P.S.; GAST, R.K.; HOFACRE, C.L. Combined effect of antibiotic and competitive exclusion treatment on *Salmonella* Enteritidis fecal shedding in molted laying hens. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v.63, n.4, p.545-548, 2000.

SHARR, H. Controles de *Salmonella* na União Européia. In. CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, Campinas. **Anais...** Campinas: FACTA, 2003, p. 357-368.

SHIVAPRASAD, H.L.; BARROW, P.A. *Salmonella* infections – Pullorum Diseases and Fowl Typhoid. In\_\_\_\_\_. SAIF, Y.M. (Ed.) **Diseases of Poultry**.12. ed., Iowa: Blackwell Publishing, 2008, p. 620-636.

SILVA, E. N.; DUARTE, A. *Salmonella* Enteritidis em aves; retrospectiva no Brasil. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**. Campinas, SP, v. 4 n 2, p. 85 – 100, mai/ago. 2002.

SNOEYNBOS, G.H. Pullorum diseases. In\_\_\_\_\_. CALNEK, B.W., **Diseases of Poultry**. 9. ed., Iowa: Iowa State University, 1991, p. 73-86.

SONCINI, R.A., BACK, A. *Salmonella* Enteritidis em aves: erradicação ou controle por vacinação. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2001, Campinas. **Anais...** Campinas: FACTA, 2001, p. 21-30.

SONCINI, G.; BEGNARDI, C.; FALCONE, G. Indagine sulla presenza di *Salmonella* spp. in mova di produzione artigianale mediante separazione immunomagnetica. **Revista di Avicoltura**. v.3, p. 41-44, 1996.

TESSARI, E. N. C.; CARDOSO, A. L. S. P. CASTRO, A. G. M. Prevalência de *Salmonella* Enteritidis em carcaças de frango industrialmente processadas. **Revista Higiene Alimentar**. São Paulo, v. 17 n. 107, p. 52 – 55, abr. 2003.

- TEVECHIO, A.T. *et al.* *Salmonella* serotypes isolated from nonhuman sources in São Paulo, Brazil, from 1996 through 2000. **Journal of Food Protection**. Ames, v.65, n.6, p. 1041-1044, 2002.
- TIMMS, L.M.; MARSHAL, R.N.; BRESLIN, M.F. Laboratory and field trial assessment of protection given by *Salmonella* Enteritidis PT4 inactivated, adjuvant vaccine. **Brazilian Journal of Research and Animal Science**. São Paulo, v. 150, p. 93-102, 1994.
- TIZARD, I.R. Vacinação e vacinas. In: TIZARD, I.R. (ed). **Imunologia Veterinária**, 6 edição. Guanabara: Roca, cap.21, p.261-281, 2002.
- TODD, E.C.D. Poultry-Associated foodborne disease - its occurrence, cost, and prevention. **Journal of Food Protection**. Des Moines, v.43, n.2, p. 129-139, 1980.
- TODD, E.C.D. Preliminary estimaty of coost of foodborne disease in the United States **Journal of Food Protection**. Des Moines, v.52 n.8, p. 586-594, 1989.
- VALDEZATE, S.*et al.* Evaluation of phenotypic and genotypic markes for characterization of the emerging gastroenteritis pathogen *Salmonella* hadar. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**. Wiesbaden, v.19, p. 275-281, 2000.
- VAN ASTEN, A.J.A.M.; VAN DIJK, J.E. Distribution of “classic” virulence factors among *Salmonella* spp. **Fems Immunology and Medical Microbiology**. Amsterdam, v.44, n.3, p.251-259. 2005.
- VAN IMMERSEEL, F. *et al.* Vaccination and early protection against non-host-specific *Salmonella* Serotypes in poultry: exploitation of innate immunity and microbial activity. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, 000, p.1-20, 2005.
- VERMA, J.C.; GUPTA, B.R. Prevalence of *Salmonella* serotypes of avian origin (in India). **Indian Journal of Comparative Microbiology, Immunology and Infectious Diseases**. v. 18, n.1, p. 52-55, 1997.
- VIEIRA, M.A.M. Ilhas de Patogenicidade. **O Mundo da Saúde**. São Paulo, v.33, n.4, p. 406-414. 2009.
- VIELITZ, E.; HAHN, I.; BERCHMEIER, J. **Vaccines help to control *Salmonella* problems**. Special World Poultry Industry – *Salmonella*, Sutton, p.36-38, 1996.
- VIELITZ, E. *et al.* Immunizing against *Salmonella* infections with live and inactivated vaccines. **Deutsche Tierärztliche Wochenschrift**, Leine, v.99, n.12, p.483-385, 1992.
- WALLIS, T.S.; GALYOV, E.E.; Molecular basics of *Salmonella*-induced enteritidis. **Molecular Microbiology**. Salem, v.36, n.5, p. 997-1005, 2000.
- WARD, L.R. *et al.* *Salmonella* Enteritidis epidemic (letter comment). **Science**, Washington, v.287, n.5459, p.1753-1756, 2000.

WITHANAGE, G.S.*et al.* Increased lymphocyte subpopulations and macrophages in the ovaries and oviductus of laying hens infected with *Salmonella* enteric serovar Enteritidis. **Avian Pathology**. Champaign, v.32, n.6, p. 583-590, 2003.

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**. Cambs, v.31, n.4, p. 383-392, 2002.

ZHANG-BARBER, L.; TURNER, A.K.; BARROW, P.A. Vaccination for control of *Salmonella* in poultry. **Vaccine**. London, v.17, n.20, p. 2538-2545, 1999.

ZUANAZE, M. Vacinação contra *Salmonella* Enteritidis em reprodutoras pesadas no Brasil: Uma realidade. **Simpósio Biovet de Sanidade Avícola. I SIBISA**, p. 1-67, 2006.