

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**PESQUISA DE *SALMONELLA* spp. EM LOTES DE GALINHAS DE POSTURA
COMERCIAL VACINADAS E NÃO VACINADAS CONTRA
SALMONELLA ENTERITIDIS.**

**Vânia Maria Cristina Alves Galdino
Médica Veterinária**

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
Janeiro de 2010

**D
I
S
S.**

/

**G
A
L
D
I
N
O**

V.

M.

C.

A.

**2
0
1
0**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**PESQUISA DE *SALMONELLA* spp. EM LOTES DE GALINHAS DE POSTURA
COMERCIAL VACINADAS E NÃO VACINADAS CONTRA
SALMONELLA ENTERITIDIS.**

Vânia Maria Cristina Alves Galdino

Orientador: Prof. Dr. Ângelo Berchieri Júnior

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária (Patologia Animal).

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
Janeiro de 2010

G149p Galdino, Vânia Maria Cristina Alves
Pesquisa de *Salmonella* spp. em lotes de galinhas de postura comercial vacinadas e não vacinadas contra *Salmonella* Enteritidis / Vânia Maria Cristina Alves Galdino. – – Jaboticabal, 2010
xiii, 61 f. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2010
Orientador: Ângelo Berchieri Júnior
Banca examinadora: Luiz Augusto do Amaral, Nilce Maria Soares
Bibliografia

1. *Salmonella* spp. 2. Fezes. 3. Ovos. 4. Postura Comercial.
I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:616.981.49:636.5

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

VÂNIA MARIA CRISTINA ALVES GALDINO – Nascida em 1981, natural de São Paulo, Capital, Brasil. Formada em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais – Brasil, no ano de 2007. Inscrita no Conselho Regional de Medicina Veterinária do Estado de São Paulo sob nº 22597. Durante a graduação fui bolsista PIBEG, um programa de projetos para a educação superior e bolsista de iniciação científica PIBIC/Cnpq. No último ano do curso de graduação realizei estágios na área de avicultura: na empresa DaGranja localizada no Município de Uberaba/MG, acompanhei toda a rotina de manejo e vacinação em lotes de matrizes semi-pesadas e pesadas, desde o período de cria até o final da produção. Como aprendizado complementar participei da rotina laboratorial de exames microbiológicos no Laboratório de Microbiologia e Ornitopatologia da própria empresa. Posteriormente estagiei na empresa Hy-line do Brasil localizada no Município de Nova Granada/SP na qual acompanhei todo o manejo de lotes de matrizes leves na fazenda de matrizes, e no incubatório, toda rotina de limpeza e desinfecção das instalações, processos de incubação, transferência, nascimento, seleção e vacinação de pintinhas de um dia. A pedido da empresa realizei um trabalho de monitoramento sorológico para doença infecciosa da bolsa de Fabrício; bronquite infecciosa das aves; doença de Newcastle; micoplasmose aviária; tifo aviário; pulorose e bacteriológico para *Salmonella* spp. em aves caipiras de propriedades próximas à granja de matrizes da empresa (dados não publicados). No incubatório colhi dados para análise da relação entre idade da matriz, comprimento do pintinho, peso do pintinho e peso do saco da gema (dados não publicados). Durante o curso de Mestrado, fiz treinamento no Instituto Biológico de Bastos/SP – Unidade Laboratorial de Patologia Avícola em: necropsia para colheita de material; realização de exames microbiológicos e sorológicos de doenças avícolas, incluindo isolamento de *Salmonella* spp. No momento estou cursando Especialização em Ciências Avícolas pela Universidade Federal de Uberlândia - Minas Gerais – Brasil.

E-mail: vaniagaldino@ig.com.br

Endereço para acessar o Currículo Lattes- Cnpq:

<http://lattes.cnpq.br/8437184710962035>

“O Senhor é o meu pastor: nada me faltará.
Deitar-me faz em verdes pastos, guia-me mansamente a águas
tranquilas.
Refrigera a minha alma; guia-me pelas veredas da justiça, por
amor do seu nome.
E certamente que a bondade e a misericórdia me seguirão todos
os dias da minha vida”.

(Salmo 23)

DEDICO,

Aos meus pais
José Amaro Galdino e Almerinda Alves Galdino,
Pelo exemplo de força, seriedade e humildade.
Pelo amor, carinho e compreensão.
Pelos ensinamentos e orações.

AGRADECIMENTOS

À Deus, que apesar dos meus erros e imperfeições têm me dado forças para lutar.
Ao Prof. Dr. Ângelo Berchieri Júnior, meu orientador, por compartilhar seus conhecimentos ao longo da realização deste trabalho, pela paciência e compreensão.

Ao Médico Veterinário Antônio Carlos Sturm Paraguassú, por acreditar e me incentivar na realização de mais um estudo.

Ao Médico Veterinário José Eduardo Costa e aos criadores de galinhas para postura comercial de ovos de mesa, que confiaram em nosso trabalho e gentilmente, nos deixaram entrar em suas propriedades para colher material e então, concretizarmos esta pesquisa.

À Médica Veterinária Dra. Nilce Maria Soares do Instituto Biológico/CAPTAA/UPDBastos, por gentilmente, me guiar nos primeiros passos deste experimento.

À Bióloga Elisabete Guastalli do Instituto Biológico/CAPTAA/UPDBastos, pelos ensinamentos de bacteriologia, pela amizade e companhia, durante minha passagem pela Cidade de Jaboticabal.

À Mariana Dias da Silva, estagiária do Laboratório de Ornitopatologia, FCAV – UNESP, Jaboticabal, que contribuiu grandemente para a realização desta pesquisa.

À Adriana Maria de Almeida, técnica do Laboratório de Ornitopatologia, FCAV – UNESP, Jaboticabal, pelo apoio técnico.

À Sueli Aparecida Fernandes do Instituto Adolfo Lutz/SP, por realizar as tipificações da *Salmonella* spp.

À Sra. Aparecida Baptista Rodrigues e ao Sr. Antônio José dos Santos, pelos ensinamentos, incentivos e amizade.

Ao Médico Veterinário Daniel Teixeira Vilhena Bernardes, pelo amor, companheirismo e dedicação.

Aos colegas de pós-graduação, pela amizade, ajuda nas colheitas de amostras, e pelos diversos momentos de descontração.

Aos docentes do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da FCAV – UNESP, Jaboticabal, que de alguma forma contribuíram para a minha formação.

À todos os funcionários e residentes do Departamento de Patologia Veterinária, que me auxiliaram direta ou indiretamente na realização deste trabalho.

À instituição FAPESP, pelo auxílio financeiro.

SUMÁRIO

Página

Lista de Tabelas.....	iii
Resumo.....	iv
Summary.....	v
I. INTRODUÇÃO.....	1
II. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1. Taxonomia do gênero <i>Salmonella</i>	4
2.2. Epidemiologia de salmoneloses em granjas de galinhas produtoras de ovos comerciais.....	7
2.3. Infecção de galinhas poedeiras comerciais por salmonelas paratíficas – Sorovares frequentemente isolados.....	12
2.4. Saúde pública – Ocorrências de surtos associados ao consumo de ovos e derivados.....	15
2.5. Medidas de prevenção e controle de <i>Salmonella</i> spp. em propriedades avícolas.....	17
III. OBJETIVOS.....	20
3.1. Geral.....	20
3.2. Específicos.....	20
IV. MATERIAL E MÉTODOS.....	21
4.1. Local de colheita das amostras.....	21
4.2. Colheita das amostras.....	22

4.2.1. Colheita de mecônio das caixas de transporte.....	22
4.2.2. Colheita de fezes frescas cecais.....	22
4.2.3. Colheita de ovos.....	23
4.3. Exame bacteriológico para o isolamento de <i>Salmonella</i> spp.....	23
4.3.1. Análise das amostras de mecônio e de fezes frescas cecais.....	23
4.3.1.1. Pré-enriquecimento.....	23
4.3.1.2. Enriquecimento seletivo.....	23
4.3.1.3. Semeadura em placa.....	24
4.3.1.4. Testes bioquímicos presuntivos.....	24
4.3.1.5. Caracterização antigênica da cepa bacteriana – prova sorológica.....	24
4.3.2. Análise das amostras de ovos.....	25
V. RESULTADOS.....	26
VI. DISCUSSÃO.....	29
VII. CONCLUSÕES.....	37
VIII. REFERÊNCIAS.....	37

LISTA DE TABELAS

Página

Tabela 1 – Número de amostras de suabe de caixa de transporte de pintinhas de um dia de vida positivas para <i>Salmonella</i> spp., pelo número total de amostras colhidas em cada granja.....	26
Tabela 2 – Número de amostras de fezes frescas cecais positivas para <i>Salmonella</i> spp., pelo número total de amostras colhidas por lote, em granjas de galinhas para postura comercial do Estado de São Paulo.....	27
Tabela 3 – Sorovares de <i>Salmonella</i> spp. isolados de acordo com o sorogrupo, fórmula antigênica e tipo de amostra analisada.....	28

**PESQUISA DE *SALMONELLA* spp. EM LOTES DE GALINHAS DE POSTURA
COMERCIAL VACINADAS E NÃO VACINADAS CONTRA
SALMONELLA ENTERITIDIS**

RESUMO – A presença de *Salmonella* spp. foi analisada em lotes galinhas para postura comercial de ovos de mesa por meio da pesquisa bacteriológica em amostras de mecônio colhidas das caixas de transporte de aves para reposição, de um dia de vida, e em fezes frescas cecais e ovos de oito lotes de aves poedeiras comerciais adultas, em período de produção, quatro vacinados e quatro não vacinados com bacterina oleosa contra SE. A colheita das amostras e a rotina bacteriológica seguiram as recomendações de ZANCAN et al., (2000) e de WRAY & DAVIES (1994). Obteve-se o isolamento de *Salmonella* spp. em 50% dos lotes de aves para reposição avaliados e nas fezes de 25% dos oito lotes de aves adultas. Não houve isolamento do agente nas amostras de ovos examinados. Foram isolados os sorovares: *Salmonella enterica* subsp. *enterica* 4,12:r:-; *Salmonella Mbandaka*; *Salmonella enterica* subsp. *enterica* 6,7:z₁₀:-; *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Havana, que foram associados a surtos de enfermidades transmitidas por alimentos para seres humanos, principalmente pelo consumo de produtos de origem avícola como carne de aves, ovos e seus derivados. Os resultados obtidos neste estudo sugerem que há falhas nos programas de monitoria e biossegurança das granjas matrizes e incubatórios; indica que as galinhas estão infectadas, que há presença do patógeno no ambiente de criação de galinhas para postura comercial de ovos e, sugere que medidas de higiene e biossegurança associadas à vacinação contra SE, pode ter contribuído para a ausência do sorovar em lotes vacinados.

Palavras-Chave: *Salmonella* spp., fezes, ovos, postura comercial, vacinação

**SALMONELLA spp. INVESTIGATION IN LAYING HENS FLOCKS
VACCINATED AND UNVACCINATED AGAINST
SALMONELLA ENTERITIDIS**

SUMMARY– The presence of *Salmonella* spp. was analyzed in flocks of laying hens by means of bacteriological samples taken from meconium in transport box of newly hatched chicks, at the moment they were received in the farms, in feces samples and eggs of eight flocks of adult laying hens, in the production period, that four flocks were vaccinated with oil-emulsion bacterin against SE and four unvaccinated. The sampling and routine bacteriological analysis followed the recommendations of ZANCAN et al., (2000) and WRAY & DAVIES (1994). *Salmonella* spp. was isolated from 50% of the replacement poultry flocks evaluated, and 25% of the feces samples from eight flocks of adult laying hens. There was no isolation of the agent in samples of eggs assessed. Isolated serovars were: *Salmonella enterica* subsp. enterica 4,12:r-; *Salmonella Mbandaka*; *Salmonella enterica* subsp. enterica 6,7:z₁₀-; *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Havana whom have been associated with outbreaks of food-borne diseases to humans, especially by the consumption of products of poultry and poultry meat, eggs and egg products. The result of this study shows that there are flaws in monitoring and biossecurity programs in breeder farms and hatcheries. It demonstrated that there is infection and presence of the pathogen into the environment of commercial laying hens, and suggests that measures of hygiene and biossecurity associated with vaccination against SE, may have contributed to the absence of *Salmonella* Enteritidis in vaccinated flocks.

Keywords: *Salmonella* spp., feces, eggs, laying hens, vaccination

I. INTRODUÇÃO

A cadeia produtiva da avicultura brasileira representa uma das mais importantes cadeias agropecuárias para o país. Setores de produção, processamento e mercado (atacado e varejo) formam elos, que juntos, contribuem grandemente para o desenvolvimento social do país gerando milhões de empregos e divisas. Como parte integrante dessa cadeia produtiva está o setor de galinhas destinadas à postura comercial de ovos de mesa.

O setor de postura comercial inclui granjas de avós, granjas de matrizes com seus respectivos incubatórios e granjas comerciais de galinhas para produção de ovos. O sistema de produção de ovos comerciais das empresas brasileiras caracteriza-se em sua maioria, por granjas próprias, de pequeno a médio porte e mão-de-obra familiar. Todavia, a automação e modernização dos sistemas de produção, assim como, a agregação de valor aos produtos de ovos, tornou-se cada vez mais relevante.

Com capacidade de produzir alimentos de qualidade a um baixo custo, o setor brasileiro de aves para postura comercial, está a cada ano, conquistando novos mercados. Expoente mundial na produção avícola, o Brasil exportou 36.038.499 quilos de ovos e produtos de ovos no ano de 2008, um aumento de 238% comparado a 2007. A receita gerada foi de US\$ 58.040.713.00/FOB, e desse total, 92% foram de ovos em casca (UBA, 2008).

Entretanto, ainda existem desafios, e esses, induzem ao aperfeiçoamento das medidas que visam não somente à inocuidade dos produtos, mas também, o crescimento sustentável. Romper barreiras sanitárias impostas muitas vezes por motivos protecionistas, é uma meta a ser alcançada, por vários países exportadores de produtos de origem animal. Nesse contexto, um dos principais microrganismos estudados é *Salmonella* spp., que há muito, preocupa autoridades nacionais e internacionais devido à sua complexidade e patogenicidade, tanto para seres humanos como para animais.

Dentre os sorovares capazes de causar infecções e septicemias severas em humanos estão *Salmonella* Enteritidis (SE), *Salmonella* Typhimurium (ST), *Salmonella* Infantis (SI), *Salmonella* Hadar e *Salmonella* Virchow, considerados os sorovares de maior importância em saúde pública pela União Europeia (EFSA, 2007).

Produtos avícolas como carne, ovos e seus derivados, há décadas, são incriminados como veiculadores de microrganismos patogênicos causadores de infecções alimentares. Segundo a EFSA (2009), ovos e derivados foram responsáveis por 42% dos surtos causados por *Salmonella* spp., agente mais frequentemente isolado em casos de doenças entéricas bacterianas em seres humanos na Europa. Devido a esse fato, medidas rigorosas de monitoramento e controle estão sendo implementadas nesses países, e barreiras sanitárias estão sendo impostas por eles, aos países exportadores, objetivando reduzir a infecção das aves e a contaminação de produtos avícolas por *Salmonella* spp.

Estudos foram realizados sobre a prevalência e os tipos de sorovares de *Salmonella* spp., mais frequentes, em amostras fecais provenientes de galinhas produtoras de ovos comerciais. No Estado da Califórnia (EUA), CASTELLAN et al. (2004), encontraram prevalência de SE em 10,5% dos lotes avaliados. Outro levantamento, feito por uma empresa multinacional europeia, indicou que 20,4% dos lotes de galinhas para postura, europeus, estavam positivos para SE ou ST (EFSA, 2007a).

No Brasil, acontecimentos semelhantes também têm levado a mudanças no sistema de produção de alimentos. Ações estão sendo implementadas, com o objetivo de assegurar a elaboração de produtos industrializados e de origem animal inócuos à saúde pública, e em conformidade com as normas sanitárias das legislações nacionais e internacionais.

As diretrizes internacionais em zoonoses preconizadas pela Comunidade Europeia implicaram na adequação do Brasil a essas normas, e para isso, foi criado o Plano Nacional de Sanidade Avícola (PNSA), por meio da portaria nº 193 de 19/09/1994, (Anexo I), do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA.

Anos mais tarde, com o objetivo de reduzir a ocorrência de infecção por *Salmonella* spp. nos plantéis de aves reprodutoras e de postura comercial, foram feitas modificações no PNSA, e por meio da Instrução Normativa 78 publicada no Diário Oficial em 05 de novembro de 2003, a utilização de vacinas inativadas contra SE foi liberada (BRASIL, 2003).

Desde então, o uso de vacinas contra *Salmonella* spp. nos plantéis de reprodutoras matrizes e de postura comercial brasileiros foi aos poucos sendo difundida. Porém, faltam estudos sobre a prevalência e tipo de sorovares de *Salmonella* spp. em plantéis de postura comercial brasileiros.

Pesquisas de campo que analisem se há necessidade do uso de vacina contra SE e se, a vacinação têm auxiliado na redução da infecção das aves e contaminação dos ovos por *Salmonella* spp. são necessárias, uma vez que, com os dados em mãos, ações preventivas, bem como de contenção e controle de salmonelas, poderão ser aplicadas, com uma maior conscientização das autoridades do setor e dos produtores de ovos.

Devido a esse fato, o presente trabalho foi elaborado para analisar criações de galinhas de postura comerciais vacinadas e não vacinadas contra SE, por meio da pesquisa de *Salmonella* spp. em amostras de mecônio, colhidas do fundo e laterais das caixas de transporte de pintinhas de um dia de vida e em amostras de fezes e ovos de galinhas adultas em período de produção.

II. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Taxonomia do gênero *Salmonella*

O gênero *Salmonella* faz parte da família *Enterobacteriaceae*. São bactérias aeróbias, mas podem também facultativamente, sobreviver em condições de anaerobiose. São bacilos gram-negativos, não formadores de esporos. Salvo raras exceções, são móveis por possuírem flagelos peritríquios (VARNAM & EVANS, 1991; FORSHELL & WIERUP, 2006). A temperatura ótima de multiplicação é 37°C, porém também se multiplicam em temperaturas mais altas como, por exemplo, a 42°C, característica esta muito utilizada para reduzir a multiplicação de bactérias contaminantes, principalmente em amostras fecais (WALTMAN, 2000).

Métodos moleculares têm demonstrado que o gênero consiste de duas espécies: *S. enterica* e *S. bongori* (LE MINOR & POPOFF, 1987; REEVES et al., 1989). Uma terceira espécie denominada de *S. subterrânea* foi descrita por SHELOBOLINA et al. (2004), mas, segundo GRIMONT & WEILL (2007), esta não pertence ao gênero *Salmonella*.

As salmonelas, em geral, produzem gás a partir da fermentação da glicose, podendo utilizar também o citrato como fonte de carbono. Elas reduzem nitratos a nitritos, mas não produzem indol ou descarboxilam a uréia, porém descarboxilam a lisina e a ornitina. À maioria dos sorovares conhecidos produzem gás sulfídrico (H₂S). Já quanto à fermentação da lactose, à grande maioria das subespécies de *Salmonella* não o fazem, a menos que, a cepa isolada possua um plasmídio que codifique a utilização desse açúcar como fonte de energia, como é o caso de *S. arizonae* (JONES et al., 2000).

Com base em reações bioquímicas, por meio da utilização de açúcares, proteínas e a produção de gases, a espécie *enterica* foi subdividida em seis subespécies: *S. enterica* subsp. *enterica*; *S. enterica* subsp. *salamae*; *S. enterica* subsp. *arizonae*; *S. enterica* subsp. *diarizonae*, *S. enterica* subsp. *houtenae* e *S. enterica* subsp.

indica (LE MINOR et al., 1982; GRIMONT et al., 2000; FORSHELL & WIERUP, 2006). Dentre as subespécies, a *enterica*, de acordo com os dados do CDC (2006), é a mais comumente isolada em surtos de infecção alimentar em seres humanos.

Para a caracterização dos sorovares são utilizados antissoros que reagem com antígenos presentes na célula bacteriana. Há três diferentes tipos de antígenos que podem identificar os sorovares de *Salmonella* spp. : antígeno somático (O), antígeno flagelar (H) e o antígeno capsular de virulência (Vi). Formado por repetidas subunidades de oligossacarídeos, o antígeno somático O, é a porção mais externa da parede bacteriana e corresponde à parte antigênica da camada de lipopolissacarídeos (LPS), presentes na membrana celular de todas as bactérias gram negativas, como *Salmonella* spp. (REEVES et al., 1996; SELANDER et al., 1996). Essas subunidades formam regiões altamente variáveis, em que os tipos de arranjos dos açúcares, determinam diferentes epítomos e assim, a especificidade de cada sorovar (KONEMAN et al., 2001).

Os antígenos presentes na camada de LPS promovem contato direto da bactéria com o ambiente e possui grande importância na interação do agente com o hospedeiro. Isso faz com que, *Salmonella* spp. possa sobreviver em diferentes condições como fezes, poeira, ambientes secos, acidez do estômago, lúmen do intestino, espaço extracelular dos tecidos do hospedeiro e dentro de macrófagos (RYCROFT, 2000). O autor também descreve que uma mutação no formato da cadeia LPS, modifica o formato de crescimento da colônia em placa, fazendo com que deixe de crescer em formato liso (S) passando para um crescimento irregular, e assim denominada de cepa rugosa (R). Os antígenos da membrana celular, mais comuns, dentro da subespécie *enterica* são aqueles encontrados nas salmonelas dos sorogrupos A, B, C1, C2, D e E (UZZAU et al., 2000; GRIMONT & WEILL, 2007).

Associados a membrana celular da maioria das salmonelas, os flagelos são estruturas longas e delgadas com cerca de 20nm de espessura e 20µm de comprimento e são responsáveis pela locomoção das bactérias. Nos flagelos bacterianos estão presentes antígenos compostos por subunidades de proteínas chamadas de flagelina (H), que são altamente imunogênicas e instáveis na presença de

calor. No gênero *Salmonella* o antígeno flagelar pode estar presente na forma simples (monomérica) ou em duas formas separadas (difásica). Contudo, somente uma delas é expressada a um dado momento. Esse fenômeno é conhecido como variação de fase de Andrewes. Isso ocorre devido à expressão de genes para diferentes tipos de flagelina que, ajuda na sobrevivência da bactéria frente às defesas do hospedeiro (MACNAB, 1987).

Um terceiro antígeno conhecido é o antígeno capsular. Descoberto em 1934 e nomeado de Vi, devido sua associação com a virulência dos sorovares (RYCROFT, 2000). Três locos estão envolvidos no controle genético de sua produção (*viaA*, *viaB* and *ompB*) e somente os sorovares Typhi, Paratyphi C e Dublin expressam essa característica (GRIMONT et al., 2000).

Sendo assim, a fórmula antigênica de um sorovar é determinada pela combinação de seus antígenos O, H1 (flagelar fase1) e H2 (flagelar fase2). E com base nessas características, a sorotipagem é descrita da seguinte forma: para os antígenos O são atribuídos algarismos arábicos (Ex.: 1, 2 e 5) enquanto que, para os antígenos H1 são atribuídos letras minúsculas (Ex.: a, b, i) e para antígenos H2 numerais arábicos (Ex.: 1, 2 e 5). Exemplificando, a fórmula antigênica da SE (sorogrupo B) é descrita como: 1, 9, 12: g, m: - (SELANDER et al., 1996; JAY, 2000).

De acordo com GRIMONT & WEILL (2007) há um total de 2.579 sorovares isolados de *Salmonella* spp. Desses, 22 pertencem à espécie *S. bongori* e a maior parte, à espécie *enterica* subsp. *enterica* com 1.531 espécimes. Segundo GAST (2007), cerca de 10% do total de sorovares, já foram isolados de aves.

Os sorovares também podem ser subdivididos em biótipos e fagotipos. A biotipagem analisa os diferentes padrões de fermentação e assimilação de aminoácidos para o mesmo sorovar; já o método de fagotipagem é baseado na diferença de sensibilidade ou resistência das cepas, a uma série de bacteriófagos (WARD et al., 1987; VARNAM & EVANS, 1991; GRIMONT et al., 2000; DUNKLEY et al., 2009).

Alguns sorovares têm seu hábitat limitado, sendo hospedeiros específicos, como os sorovares Typhi e Paratyphi A para seres humanos e Abortusovis para ovelhas, entre outros. Em aves, os sorovares denominados hospedeiro-específico são

Salmonella Gallinarum (SG) e *Salmonella* Pullorum (SP) que são imóveis e provocam as doenças sistêmicas tifo aviário (SG) e pulorose (SP) e, raramente, estão envolvidos em infecção alimentar (GRIMONT et al., 2000; GANTOIS et al., 2009).

Exceto os sorovares Gallinarum e Pullorum, os demais, quando acometem as aves, são chamados de salmonelas paratíficas, podendo infectar animais e seres humanos indistintamente (GRIMONT et al., 2000; FORSHELL & WIERUP, 2006). Para BERNDT et al. (2007) um dos fatores que contribui para isso, é o alto grau de diversidade antigênica que esse gênero possui, facilitando sua adaptação a diversos hospedeiros.

2.2. Epidemiologia de salmoneloses em granjas de galinhas produtoras de ovos comerciais

Bactérias do gênero *Salmonella* são isoladas em todo o mundo, no entanto, em áreas de criação animal intensiva, principalmente de suínos, bovinos e aves, os relatos são ainda mais frequentes (OIE, 2004). Os fatores mais importantes para sua presença são os carreadores crônicos assintomáticos e a capacidade que a bactéria possui em se manter viável no meio ambiente por longos períodos e até mesmo de se multiplicar, quando em condições favoráveis de umidade, pH e nutrientes (STELLMACHER, 1999).

São inúmeras as fontes de infecção de *Salmonella* spp. para galinhas comerciais. Aves, mamíferos e répteis, são carreadores em estado latente ou assintomáticos, e todos podem excretar a bactéria pelas fezes se tornando reservatório e fonte de infecção tanto para outros animais, quanto para seres humanos e fonte de contaminação para o meio ambiente (POPPE, 2000).

Aves de produção podem se infectar por via horizontal, ou seja, devido ao contato com água, ração, poeira, penugem, máquinas e equipamentos de incubação de ovos e aerossol contaminados com *Salmonella* spp. Além disso, o contato com outras aves, roedores, insetos e animais silvestres são importantes vias de transmissão

para diversos sorovares (HOLLINGER, 2000; KINDE et al., 2004; BERCHIERI JÚNIOR & FREITAS NETO, 2009).

Há muito já se sabe que a água de bebida contaminada pode facilitar a disseminação de *Salmonella* spp. entre as aves de produção (GAUGER & GREAVES, 1946). A contaminação pode vir de diversas fontes como efluentes humanos, agrícolas e fezes excretadas por animais silvestres infectados. Para MURRAY (2000), matérias orgânicas presentes no ambiente aquático protegem e fornecem nutrientes para multiplicação bacteriana. O consumo de água contaminada por animais silvestres e outros animais de vida livre completa o ciclo de vida do microrganismo na natureza.

NAKAMURA et al. (1994), observaram que ao inocular por via oral 1mL (10^5 UFC/mL) de suspensão bacteriana de SE PT4 em aves de postura, a infecção se espalhou rapidamente e dentro de um a cinco dias, as aves em contato, não inoculadas, também se tornaram infectadas. Ao analisarem a água de bebida das aves foi isolado o mesmo sorovar utilizado para desafiá-las, o que segundo os autores, sugere que a água teria facilitado a rápida disseminação do sorovar entre os animais.

Salmonella pode ser isolada, tanto da ração pronta quanto de seus ingredientes. Os componentes da ração, tanto os de origem animal como os de origem vegetal (milho e soja) são fontes potenciais do patógeno para aves de granja (DAVIES, 1992). Diversos sorovares foram isolados de matérias-primas utilizadas para fabricação de ração para aves. Dentre eles estão: *S. Agona* e *S. Typhimurium* (grupo B), *S. Mbandaka* e *S. Ohio* (grupo C1), *S. Panama* (grupo D1), *S. Cubana* e *S. Havana* (grupo G), além de outros sorovares como, *S. 4,12:i:-*, *S. Inganda*, *S. Infantis*, *S. Mbandaka* O14⁺, *S. Grumpensis* (HUGH-JONES et al., 1975; YOSHIMURA et al., 1979; BERCHIERI JÚNIOR et al., 1984; BERCHIERI JÚNIOR et al., 1989; HOFER et al., 1997; SOUZA et al., 2002). A presença de mais de um sorovar, principalmente em ingredientes de origem animal como farinha de carne, há tempos, também tem sido relatada na literatura (MIRANDA et al., 1978; BERCHIERI JÚNIOR et al., 1984).

A transmissão de *Salmonella* spp. em galinhas poedeiras comerciais pode ocorrer durante a incubação de ovos férteis. Segundo CASON et al. (1994), quando ovos livres (sem a presença de *Salmonella* spp.) são incubados junto com ovos ou

máquinas e equipamentos contaminados, a bactéria se espalha rapidamente entre as aves, pelo contato com pintos mortos contaminados, mecônio ou pela alta taxa de contaminação do ar dentro da máquina de incubação. Em aves adultas também ocorre esse tipo de transmissão.

Ao expor galinhas de postura em um ambiente com pequenas partículas no ar contendo diferentes concentrações de SE PT4, houve infecção sistêmica, diarreia com eliminação do sorovar, perda de peso e mortalidade. Além disso, os autores observaram que a bactéria persistiu no intestino, ovário e oviduto por até 28 dias após exposição (BASKERVILLE et al., 1992).

Os roedores são considerados como um risco potencial para a saúde pública e sua presença em uma criação de aves pode servir como indicador de falha na biossegurança da granja. Diversos autores relatam a participação de roedores na transmissão e persistência de *Salmonella* spp. em plantéis de galinhas comerciais (HENZLER & OPITZ, 1992; DAVIES & WRAY, 1995).

Ratos e camundongos têm alta susceptibilidade a sorovares de *Salmonella* DAVIES & WRAY (1995) e de acordo com MURRAY (2000), no passado, SE variante Danysz foi utilizada como medida de controle populacional desses animais, o que contribuiu para que o sorovar Enteritidis se espalhasse, contaminando outras espécies animais inclusive aves.

Estudos realizados no Reino Unido por HEALING (1991), demonstraram que das 58 cepas de SE isoladas de ratos, 55 foram da variante Danysz, demonstrando que os ratos se constituem em importante fonte de infecção tanto para aves, quanto para seres humanos. HEALING & GREENWOOD (1991), consideram que a atividade humana é que propicia que roedores sejam fontes de disseminação da bactéria.

Ratos podem ser infectados pelo contato com fezes de aves infectadas. Esses animais excretam grande quantidade de *Salmonella* spp. em suas fezes, disseminando-a no ambiente (TAYLOR, 1956; DAVIES & WRAY, 1995). Em estudos recentes SNOW et al. (2008) e CARRIQUE-MAS et al. (2009) encontraram correlação positiva entre presença de roedores, infecção e persistência da SE em lotes de aves de postura comercial, demonstrando que o controle de roedores nos estabelecimentos avícolas é

imprescindível. CARRIQUE-MAS et al. (2009) isolaram SE e ST de fezes de ratos oriundos de granjas com histórico de isolamentos frequentes desses sorovares.

Insetos como baratas, besouros e moscas, além de servirem como fonte de contaminação para as aves, facilitam a disseminação de microrganismos infecciosos entre os lotes, incluindo os do gênero *Salmonella* (BENNET, 1993; KOPANIC et al., 1994; OLSEN & HAMMACK, 2000; ROCHE et al., 2009).

Para avaliar se moscas (*Musca domestica*) seriam fontes de contaminação de *Salmonella* spp., HOLT et al. (2007), forneceram moscas contaminadas com SE para galinhas SPF. A excreção fecal de SE nas aves, foi monitorada durante três semanas, verificando-se de 10^3 a 10^7 células/g de fezes, após a primeira semana do desafio. Os autores concluíram que moscas contaminadas com SE podem transmitir a bactéria para as aves. No mesmo estudo, observou-se que o contrário também ocorre. Moscas livres de *Salmonella* spp. foram colocadas em contato com aves desafiadas com SE. Após 48h de exposição, aproximadamente, 50% das moscas estavam contaminadas, demonstrando que moscas podem se contaminar por meio do contato com aves infectadas e com isso, disseminar a bactéria para outras aves e meio ambiente.

Aves comerciais, principalmente, as alojadas em galpões abertos, estão susceptíveis ao contato com répteis e aves silvestres de vida livre que se aproximam das instalações em busca de água e alimento. Segundo BERSOT (2006), esses são importantes reservatórios para diversos sorovares de *Salmonella* spp.

De acordo com JOHNSON-DELANEY (1996), tanto aves silvestres clinicamente saudáveis quanto infectadas que sobreviveram a um surto, podem ser portadoras de salmonelas. Quanto aos répteis, de forma geral, mesmo quando desafiados com altas doses, não apresentam sinais clínicos de salmonelose. Lagartos e serpentes, inoculados experimentalmente por via oral, apresentam colonização intestinal e excretam *Salmonella* spp. nas fezes, sem manifestação clínica da enfermidade.

Agentes etiológicos patogênicos para galinhas e, eventualmente, para seres humanos foram pesquisados em aves selvagens que viviam nas proximidades de instalações avícolas por SOUZA (2007), que isolou S. Muenchen e S. Saintpaul (grupo

B) do conteúdo intestinal de uma seriema (*Cariama cristata*) e SE em conteúdo intestinal de pomba (*Zenaida auriculata*).

Em um outro estudo, LOPES (2008), analisou 400 amostras individuais de suabe cloacal de aves e répteis de cativeiro e de vida livre provenientes do Estado de São Paulo, quanto à presença de *Salmonella* spp. Dos 200 répteis estudados, 71 foram positivos para algum sorovar (35,5%), sendo observado em alguns animais mais de um sorovar de *Salmonella* spp., o que demonstra a importância desses animais como reservatórios. Já nas amostras de suabe de cloaca das aves, não houve isolamento da bactéria. Contudo, o autor enfatiza que se deve estar consciente do grande potencial disseminador que as aves possuem.

Quando órgãos do trato reprodutivo como ovário, oviduto e folículos ovarianos são colonizados por *Salmonella* spp., a transmissão vertical pode ocorrer, ou seja, o ovo pode ser contaminado antes da oviposição e se esse estiver fértil, a progênie poderá nascer infectada (POPPE, 2000). A interação da bactéria com componentes celulares e folículos pré-ovulatórios é evidenciada por GANTOIS et al. (2009), que descrevem a importância da transmissão de SE via ovo.

A análise bacteriológica de amostras de mecônio colhidas nas caixas de transporte ou de amostras de órgãos de aves, no momento em que essas chegam à granja, é um dos métodos utilizados para avaliar a transmissão vertical de *Salmonella* spp. A saúde das aves de um dia é um reflexo direto da saúde das matrizes (TESSARI et al., 2003).

A transmissão vertical e a disseminação entre as pintinhas ainda dentro dos nascedouros, segundo SONCINI et al. (2000), predispõe todas as aves do lote à infecção por salmonelas, tornando difícil seu controle. Em um estudo envolvendo mais de oito milhões de frangos de corte BAILEY (2000), isolou em carcaças sorovares que frequentemente eram isolados de amostras provenientes das incubadoras, demonstrando que essas aves já chegaram às granjas infectadas. Mais tarde, TESSARI et al. (2003), isolaram em 24,62% dos lotes estudados, SE e *Salmonella enterica* subespécie *enterica* 9,12 de órgãos de pintainhos de corte com um dia de vida.

Ao pesquisar *Salmonella* spp. em caixas de transporte de galinhas para postura comercial de ovos, ZANCAN et al. (2000) encontraram 77% de lotes positivos, demonstrando que a transmissão vertical de *Salmonella* é um fator de introdução da bactéria na granja. De acordo com GAMA et al. (2003), lotes positivos no primeiro dia de vida permanecem positivos até a fase adulta.

Além da transmissão transovariana, a contaminação de ovos por salmonelas paratíficas pode ocorrer por meio da penetração da bactéria pela casca, quando o ambiente em que as aves estão alojadas está contaminado (CARRIQUE-MAS & DAVIES, 2008). A poeira presente nos aviários, por exemplo, tem sido citada como um meio de transmissão de salmonelas, uma vez que, podem sobreviver por até 53 semanas nesse material e até 26 meses em lixo e ração (DAVIES & WRAY, 1996; DAVIES & BRESLIN, 2003; HARBAUGH et al., 2006).

Ao eliminarem *Salmonella* spp. em suas fezes, as galinhas de postura se tornam um importante meio de propagação da bactéria. Ovos em contato com fezes de galinhas infectadas podem estar contaminados (BARROW, 1999; GAST, 2003). A contaminação de alimentos por fezes é fonte de infecção de *Salmonella* spp. para seres humanos (FORSHELL & WIERUP, 2006).

2.3. Infecção de galinhas poedeiras comerciais por salmonelas paratíficas-Sorovares mais frequentemente isolados

A infecção de aves sorovares de *Salmonella* spp. apresenta três fases distintas. CHAPPELL et al. (2009), descreveram que a primeira fase ocorre quando há o contato da bactéria com o hospedeiro, geralmente, pela via fecal-oral. A partir de então, ocorre invasão do epitélio do trato gastrintestinal podendo ou não provocar inflamação do tecido afetado, dependendo dos fatores de patogenicidade da cepa. A terceira fase se dá quando *Salmonella* promove infecção sistêmica devido sua invasão e replicação dentro de macrófagos associados a tecidos linfóides e células dendríticas da mucosa intestinal. Durante cada uma dessas fases, há uma grande e intensa participação do

sistema imune. Após a invasão intestinal e a replicação da bactéria dentro de macrófagos, o sistema imune pode responder de três formas: combater a infecção por meio da ação de linfócitos T, B e macrófagos, inibindo a multiplicação bacteriana e promovendo a eliminação do microrganismo pela ação de células Th1; macrófagos e heterófilos podem falhar no controle da invasão e da multiplicação bacteriana, e a ave pode sucumbir ou então, macrófagos e linfócitos T podem controlar a replicação, promover uma eliminação parcial do agente por resposta adaptativa e a ave assim, se tornar portadora com a presença de *Salmonella* spp, no fígado, baço e trato reprodutivo.

Além das características intrínsecas de invasibilidade dos sorovares, fatores externos causadores de estresse, tornam as aves poedeiras mais vulneráveis à infecção por sorovares paratíficos de *Salmonella* spp. As práticas de manejo como a alteração de fotoperíodo ou a retirada temporária de água e alimento para obtenção de um segundo ciclo de produção de ovos (muda forçada), diminuem a resposta imunológica frente ao agente e aumenta a excreção fecal da bactéria pelas aves (NAKAMURA et al., 1994; HOLT, 2003; RICKE, 2003; GOLDEN et al., 2008). Com a resposta imunológica celular deprimida e a diminuição do número de linfócitos periféricos no sangue, HOLT & PORTER JÚNIOR (1992), os sorovares paratíficos podem provocar doença em aves adultas.

Surtos agudos com exibição de sinais clínicos e mortalidade também são descritos em pintos jovens principalmente, com menos de duas semanas de idade, provocados por sorovares paratíficos como *S. Typhimurium*, *S. Havana* e *S. Enteritidis* (GRIMES, 1979; LISTER, 1998; BARROW, 2000; STERZO et al., 2008).

Penas arrepiadas, asas caídas, diarreia, cegueira, claudicação, retardo no crescimento ou mortalidade são alguns dos sinais clínicos relatados em pintainhos. Em aves adultas, inapetência, diarreia e queda de postura podem ser observados. À morbidade e mortalidade dependerá da intensidade de infecção das aves, do sorovar e da cepa isolada (POPPE, 2000; BERCHIERI JÚNIOR & FREITAS NETO, 2009).

A grande preocupação com a infecção de galinhas de postura por salmonelas paratíficas é que a maioria dos sorovares, frequentemente, não levam a sinais clínicos aparentes, porém, podem acarretar em perdas de produção além da contaminação dos

ovos, e desse modo causar infecção intestinal com variável grau de severidade em seres humanos (FORSHELL & WIERUP, 2006).

A maior parte das informações relativas à ocorrência de sorovares de *Salmonella* spp. tanto em seres humanos como em animais, está baseada em registros de isolamentos realizados por laboratórios que participam de programas de vigilância sanitária. Muitos fatores influenciam na atualização desses registros e como exemplo podemos citar a frequência de colheita de material dos serviços de vigilância epidemiológica, a submissão dos isolados a sorotipagem, severidade da doença nos animais e/ou associação com surtos de infecção alimentar na população humana (VAN DE GIESSEN et al., 1992). Segundo BERCHIERI JÚNIOR & FREITAS NETO (2009), mais de cem sorovares estão como os mais comuns isolados de aves, sendo mais frequente ST, mas outros, como SE, S. Agona, S. Hadar, S. Montevideo, S. Senftenberg, S. Saint Paul e S. Heidelberg, também foram descritos.

Há uma grande variação na ocorrência de sorovares de *Salmonella* spp. em aves domésticas em diferentes países e períodos. Muitos sorovares se disseminaram por todo o mundo, porém, a frequência de sorovares, ditos “comuns”, variam com o passar do tempo (POPPE, 2000). Em diversos países, desde 1950 até meados de 1970, o sorovar mais isolado de aves ou produtos de aves, foi ST (BULLIS, 1977).

No Reino Unido, ST predominou, com 41,1% de todos os isolados, seguido de SE com 6,2% (SOJKA, 1975). Já na década de 80 a SE foi mais frequente em aves do que a ST. A porcentagem de isolados aumentou de 3,3% em 1985 para 48,3% em 1989 (SAEED, 1999). E na década de 90, outros sorovares como S. Senftenberg e S. Mbandaka, ganharam espaço, tornando-se os segundo e terceiro mais isolados (VAN DE GIESSEN et al., 1991).

SNOW et al. (2007) isolaram SE, ST, S. Mbandaka, S. Havana, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* 4,12:d:- dentre outros, em 11,7% dos lotes de postura comercial, pesquisados no Reino Unido. Em lotes de frango de corte a prevalência foi de 10,7% com isolamento de S. Mbandaka e também *Salmonella enterica* subsp. *enterica* 4,12:d:- (grupo B) (SNOW et al. 2008). Esses sorovares foram observados

também em galinhas de postura comercial em outros países da União Européia (CARRIQUE-MAS et al., 2009).

No Brasil, SE foi detectada pela primeira vez em galinhas, em 1989, quando foi isolada de matrizes pesadas jovens, que apresentavam sintomas clínicos com mortalidade (FERREIRA et al., 1990). Apartir de então, rapidamente, o sorovar Enteritidis passou a predominar em surtos alimentares em seres humanos e a ser isolado de alimentos contendo ovos e/ou seus derivados.

KOTTWITZ et al. (2008), analisaram 60 amostras de fezes de galinhas poedeiras com idade entre 17 a 76 semanas, provenientes do Estado do Paraná. Entre os isolados, 11% foi *S. Mbandaka* e dos 30 lotes examinados, 23% estavam contaminados com algum sorovar de *Salmonella* spp. SALLES et al. (2008) ao analisarem fezes frescas de galinhas para postura comercial de ovos, em oito granjas no Estado do Ceará, encontraram positividade em 25% dos lotes, isolando-se em 6,25% das amostras os sorovares *Salmonella enterica* subespécie *enterica* cepa rugosa e *Salmonella* Newport.

Amostras avícolas provenientes de granjas, frigoríficos, agroindústrias e instituições públicas foram analisadas quanto à presença de *Salmonella* spp., no laboratório de Ornitopatologia da FMVZ-UNESP, *campus* Botucatu, no período de 1994 a 2006. Das 220 amostras analisadas foram isolados 22 sorovares, dentre eles, SE, ST, *S. Mbandaka* e *S. Havana* (LIMA et al., 2009).

2.4. Saúde pública – Ocorrências de surtos associados ao consumo de ovos e derivados

Produtos alimentícios derivados de aves como carne e ovos segundo a EFSA (2006) e GANTOIS et al. (2009), são as principais vias de transmissão de *Salmonella* spp. para seres humanos. Surtos de origem alimentar ocorridos no período de 1985 a 1999 e durante o ano de 2000 nos Estados Unidos, foram atribuídos ao consumo de ovos contaminados com SE (PATRICK et al., 2004; SCHROEDER et al., 2005).

Somente no ano de 2005 foram relatados aproximadamente 52.000 casos de salmonelose em seres humanos na Alemanha e, em 2006, a incidência de casos de gastroenterite por *Salmonella* spp. nos 25 países membros da União Européia foi de 3,4 por 100.000 habitantes (CDC, 2006).

O trabalho de OTOMO et al. (2007) apresenta importante observação a respeito da associação da infecção de aves por *Salmonella* spp. com a contaminação de ovos e surtos de infecção alimentar em seres humanos no Japão. Nesse estudo, observou-se que os mesmos sorovares isolados de ovos, responsáveis por causarem surtos de infecção alimentar humana por SE e S. Infantis entre os anos de 1996 a 1999, foram isolados em amostras cecais das aves de granjas relacionadas com o ocorrido, e que em granjas não relacionadas, não se isolou esses sorovares nas aves. Em alguns países da União Européia, *Salmonella* spp. foi isolada em plantéis avícolas mais frequentemente do que em outras populações animais, sendo encontrada em 0,8% dos ovos de mesa analisados (EFSA, 2009).

No ano de 1981, MOTA et al. (1983) fizeram a primeira descrição de um surto alimentar causado por SE no Brasil. Os Estados de São Paulo, Paraná e Rio Grande do Sul são os locais onde mais se têm relatos de surtos de infecção alimentar causados por *Salmonella* spp. Desde 1992, surtos transmitidos por alimentos, incluindo a água, são de notificação obrigatória, estando às investigações e colheita de dados no Estado de São Paulo a cargo da Divisão de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar (DDTHA) do Centro de Vigilância Epidemiológica (CVE) “Professor Alixandre Vranjag”, da Secretaria de Estado de Saúde (SES-SP).

De acordo com EDUARDO et al. (2004) entre 1999 e 2003, foram notificados ao CVE 1.024 surtos de diarreia, num total de 27.499 ocorrências. Dos 459 surtos com etiologia identificada, 325 (70,8%) foram causados por bactérias e dentre estas 43,1%, sorovares de *Salmonella*. O sorovar predominante foi o Enteritidis com 89,2% dos isolados. Mais recentemente, em 2008, no Estado de São Paulo foram notificados 27 casos de infecção alimentar por *Salmonella* spp. nos quais a maionese foi a principal fonte da bactéria (DDTHA/CVE, 2009).

Acredita-se que a incidência de doenças microbianas de origem alimentar seja bastante elevada no país, uma vez que, apenas um pequeno número de casos, chega ao conhecimento dos órgãos de inspeção (LANDGRAF & FRANCO, 1996). De acordo com COSTALUNGA & TONDO (2002), somente cerca de 1% dos surtos são notificados. Segundo os autores, isso ocorre devido ao fato de muitos patógenos presentes em alimentos causarem sintomas brandos e então, o paciente não busca auxílio médico.

Em alguns países a incidência de salmonelose tem diminuído devido à implementação de programas de controle de qualidade, com maior conscientização pública dos riscos, porém em países subdesenvolvidos e em desenvolvimento a salmonelose continua a aumentar apesar dos avanços tecnológicos nas áreas de produção de alimentos (EDUARDO et al., 2004).

2.5. Medidas de prevenção e controle de *Salmonella* spp. em propriedades avícolas

Historicamente, a prevenção de infecções em seres humanos decorrentes da ingestão de alimentos de origem animal contaminados com patógenos como *Salmonella* spp. era principalmente, dependente da integridade microbiológica dos produtos ou de sua descontaminação antes do consumo. Segundo BARROW (2007), isso tem mudado e os esforços para garantir um alimento avícola seguro tem sido ampliados, com maior atenção durante a fase de produção do alimento, ou seja, na granja. Para isto, em granjas estão sendo implementadas medidas com o objetivo de minimizar a possibilidade de entrada, persistência e transmissão de *Salmonella* spp. e de outros patógenos que acometem seres humanos.

Para GAST et al. (1997), várias medidas devem ser coordenadas e aplicadas simultaneamente. Devido às várias fontes de contaminação e disseminação, o controle de *Salmonella* spp. deve-se basear na adoção efetiva de medidas de higiene e desinfecção, programas de monitoria em granjas reprodutoras, incubatórios e granjas comerciais, associados a métodos específicos como a incorporação de ácidos

orgânicos na ração, a aplicação de produtos de exclusão competitiva e programas de vacinação. Medidas gerais devem ser tomadas de forma a atingir todos os sorovares de *Salmonella* e se preciso, ações mais específicas devem ser implementadas contra sorovares de maior significância econômica ou em saúde pública (BARROW, 2007). O objetivo final é evitar a transmissão vertical e horizontal da bactéria (BERCHIERI JÚNIOR & FREITAS NETO, 2009).

A vacinação de plantéis tem sido mais uma medida a ser recomendada para o controle da infecção de aves por SE. Esta recomendação deve-se à complexidade epidemiológica da infecção aviária. Segundo COGAN & HUMPHREY (2003), houve decréscimo nos casos relatados de infecção por SE em humanos no Reino Unido concomitantemente à introdução de programas de vacinação, contra este sorovar, em aves para postura comercial. Em diversos países, a vacinação dos lotes de galinhas de postura tem sido implementada como um programa nacional de controle contra *Salmonella Enteritidis* (OKAMURA et al., 2007).

Diversas vacinas comerciais contra *Salmonella* spp, vivas e inativadas estão disponíveis. Segundo LILLEHOJ et al. (2000) as vacinas vivas atenuadas são mais eficazes no controle das salmoneloses do que as vacinas inativadas. Entretanto, a utilização de vacinas vivas atenuadas gera preocupações devido ao seu potencial de reversão de virulência, por meio de eventos de recombinação ou de transferência gênica horizontal (BARROW & LOVELL, 1991). No entanto, de acordo com DETMER & GLENTING (2006), com uma maior compreensão obtida nos últimos 20 anos sobre as respostas imunológicas e com a disponibilidade do uso de técnicas moleculares, há grandes possibilidades de se produzir vacinas vivas que sejam seguras e eficientes.

A imunidade celular do hospedeiro é essencial para proteção contra a infecção por *Salmonella* spp. (BABU et al., 2004; OKAMURA et al., 2004; BERNDT et al., 2007). As vacinas inativadas contra *Salmonella* spp. não induzem a uma boa resposta celular, mas acredita-se que apresentem alta segurança, imunidade de longa duração e altos títulos de anticorpos circulantes. O programa de vacinação seria útil para reduzir a presença de SE em fezes e ovos durante a vida produtiva das aves (BERMUDEZ & STEWART BROWN, 2003) e para reduzir a contaminação da progênie (INOUE, 2006).

Devido à necessidade de controle de *Salmonella* spp. em plantéis avícolas, várias pesquisas foram desenvolvidas para avaliar a utilização de vacinas como ferramenta auxiliar na prevenção da infecção de aves e da contaminação dos ovos. Vários destes estudos apresentam resultados favoráveis ao uso de bacterinas no controle das salmonelas (TIMMS et al., 1994; WOODWARD et al., 2002; GAMA et al., 2003; GAST, 2003). Entretanto, o nível de redução da infecção é variável (ZHANG-BARBER et al., 1999).

Segundo GAST et al. (1993) o emprego de bacterinas oleosas contra SE em poedeiras comerciais, ocasiona redução significativa na incidência de colonização intestinal e na excreção fecal na primeira semana pós-desafio, embora as aves continuem a eliminar SE pelas fezes. DAVISON et al. (1999) consideram que o uso de bacterinas não é totalmente eficaz na redução de salmonelas no trato entérico e no meio ambiente. Neste estudo, os resultados obtidos quanto à presença de SE no ambiente e em cultura de órgãos (ovário e oviduto), foram similares entre granjas com aves vacinadas e não vacinadas contra SE.

Devido às propriedades patogênicas, como a invasividade e a infecção sistêmica do hospedeiro provocada pelos sorovares hospedeiro-específicos, como por exemplo, SG e SP, as vacinas utilizadas contra esses patógenos induzem a uma forte imunidade (SMITH, 1956; HAYES et al., 1999; EJIDOKUM et al., 2000). Porém, quando se trata da proteção conferida contra salmonelas paratíficas, as quais, como SE, que não é específica de aves, os relatos ainda são inconclusivos.

O objetivo da vacinação contra SE em aves não é apenas o controle da doença nos plantéis, mas principalmente, o controle da disseminação da bactéria pelas fezes e pela via vertical. Discutir a eficiência ou não de programas vacinais e ou de tipos de vacinas é de suma importância; porém, avaliar a prevalência da bactéria em lotes de aves e se esses dados justificam a necessidade de vacinação, é imprescindível, uma vez que em produção animal, principalmente para alimentação de seres humanos, a inocuidade dos produtos deve ser sempre levada em consideração.

III. OBJETIVOS

3.1. Geral

Avaliar a presença de *Salmonella* spp. em plantéis de galinhas para postura comercial de ovos, vacinadas e não vacinadas com bacterina oleosa contra *Salmonella* Enteritidis (SE).

3.2. Específicos

3.2.1. Avaliar lotes de pintinhas de um dia de vida quanto à presença de *Salmonella* spp. por meio da análise bacteriológica de mecônio, colhido das caixas de transporte, no momento da chegada de lotes de reposição à granja.

3.2.2. Avaliar quanto à presença de *Salmonella* spp. nas fezes, oito lotes de aves adultas, em período de produção, quatro vacinados e quatro não vacinados com bacterina oleosa contra SE;

3.2.3. Avaliar a presença de *Salmonella* spp. em ovos.

IV. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Local de colheita das amostras

As colheitas foram realizadas em granjas de galinhas para postura comercial de ovos de mesa em um município do Estado de São Paulo durante o período de 2008 a 2009.

Oito granjas foram selecionadas para colheita de fezes cecais e ovos de aves adultas e a medida em que pintinhas de um dia de vida chegavam para repor galinhas de descarte (final de produção), eram realizadas as colheitas e análises de mecônio das caixas de transporte.

Para avaliar a presença de *Salmonella* spp. em galinhas adultas, um lote de cada uma das oito granjas, foi escolhido de acordo com a idade e a utilização ou não de vacina contra SE. Cada lote era composto por aproximadamente 2.250 a 3.200 aves e, todos estavam em período de produção de ovos, com idade entre 23 a 38 semanas. As aves eram criadas em sistema de gaiolas em galpões abertos e suspensos, água *ad libitum* e arraçoamento conforme manejo de cada granja.

Nas granjas onde a prática de vacinação contra SE tornou-se frequente, a vacina utilizada era do tipo bacterina oleosa contendo células inativadas de *Salmonella* Enteritidis. A via de aplicação da vacina foi intramuscular (IM), no peito, realizada por funcionários da granja. A primeira dose foi administrada quando as aves tinham entre seis a oito semanas de vida e uma segunda dose complementar, quando as aves eram transferidas para os galpões de produção com aproximadamente, 16 semanas de idade.

Assim, os lotes foram separados em: quatro lotes vacinados com bacterina oleosa contra SE e quatro lotes não vacinados. Amostras de fezes frescas cecais e ovos desses lotes foram colhidos para avaliação bacteriológica.

4.2. Colheita das amostras

A colheita das amostras e a rotina bacteriológica seguiram, com algumas modificações, as recomendações de ZANCAN et al. (2000), para o isolamento de *Salmonella* spp. em amostras de mecônio de caixa de transporte de aves de um dia de vida e de WRAY & DAVIES (1994), para análise de fezes e ovos de aves adultas.

4.2.1. Colheita de mecônio das caixas de transporte

Lotes de pintinhas para reposição de um dia de vida chegaram à granja em caixas de transporte de papelão, cada uma contendo 100 aves. Após o alojamento das aves pelo granjeiro ou funcionários da granja, as caixas de transporte eram liberadas e então disponibilizadas para a colheita de material.

Com auxílio de suabes estéreis embebidos em água peptonada tamponada 1% (APT) (Oxoid® CM0509), foram colhidas amostras de mecônio do fundo e das laterais internas de todas as caixas de transporte.

Cada amostra foi constituída de um agrupamento de cinco suabes (um suabe por caixa). O total de amostras por granja foi dependente do número de aves recebidas no momento da colheita.

4.2.2. Colheita de fezes frescas cecais

Utilizando suabes estéreis embebidos em APT, amostras de fezes frescas cecais, abaixo das gaiolas do aviário, foram colhidas. As fezes cecais foram identificadas de acordo com as características de consistência pastosa e de coloração “marrom esverdeada”. Cada aviário foi “dividido” em quatro partes e, em cada uma, foram colhidos “pool”, agrupamentos de amostras de fezes cecais, constituindo-se em uma amostra.

Quatro visitas aleatórias foram feitas, uma por mês, em cada um dos oito lotes, totalizando 16 amostras por lote examinado.

Acondicionadas em frascos estéreis contendo APT na proporção de 1:10, as amostras de mecônio e de fezes cecais foram transportadas, sob refrigeração, para o Laboratório de Ornitopatologia da Unesp-FCAV.

4.2.3. Colheita de ovos

Duas colheitas aleatórias de ovos sujos e trincados foram realizadas em cada uma das oito granjas selecionadas. A cada colheita, 50 ovos/granja eram avaliados quanto à presença de *Salmonella* spp.

Os ovos colhidos foram transportados para o Laboratório de Ornitopatologia da Unesp-FCAV para análise.

4.3. Exame bacteriológico para isolamento de *Salmonella* spp.

4.3.1. Análise das amostras de mecônio e de fezes frescas cecais

4.3.1.1 . Pré-enriquecimento

No Laboratório de Ornitopatologia da Unesp-FCAV, os frascos com as amostras de mecônio e de fezes frescas cecais colhidas em APT foram incubados a 37°C por 18 a 24h.

4.3.1.2. Enriquecimento seletivo

Para esta etapa utilizou-se caldos selenito (Oxoid® CM395) e rapapport-vassiliadis (Oxoid® CM669). Com o objetivo de aumentar a seletividade do meio e reduzir o número de bactérias interferentes, adicionou-se 1mL do antibiótico novobiocina na concentração de 0,4%, a cada 100mL dos caldos selenito (SN) e rapapport-vassiliadis (RvN), respectivamente.

Alíquotas de 2mL e 0,2mL do conteúdo dos frascos com as amostras pré-enriquecidas em APT foram transferidas, respectivamente, para tubos contendo, 20mL de caldo SN e 20mL de caldo RvN. Os tubos foram incubados a 37°C “overnight”.

4.3.1.3. Semeadura em placa

Após o enriquecimento seletivo em caldos SN e RvN, as amostras de mecônio e de fezes frescas cecais, foram semeadas em placa contendo três meios sólidos diferentes: ágar de MacConkey (MC) (Oxoid® N°3 CM115B), ágar verde brilhante (VB) (Oxoid® CM0263) e ágar xilose-lisina-tergitol4 (XLT4) (DIFCO™ ref. 223420) que foram incubadas a 37°C por 18 a 24h.

4.3.1.4. Testes bioquímicos presuntivos

Colônias que apresentavam perfil sugestivo do gênero *Salmonella* foram retiradas das placas de ágar MC, VB e XLTA e foram inoculadas em meios de diagnóstico bioquímico presuntivo, ágar tríplice-açúcar-ferro (TSI) (Oxoid® CM277) e ágar lisina ferro (LIA) (Oxoid® CM381), incubados a 37°C por 18 a 24h.

Após os testes presuntivos, prosseguindo a suspeita de ser *Salmonella* spp, a partir do ágar TSI, semeou-se em placa contendo ágar nutriente (Oxoid® CM3), que foi incubado por 18 a 24 horas a 37°C.

4.3.1.5. Caracterização antigênica da cepa bacteriana – prova sorológica

Após a incubação das amostras suspeitas, colônias bacterianas isoladas foram utilizadas para a realização das provas sorológicas com soros polivalentes anti-antígenos somáticos e flagelares de *Salmonella* spp. (Probac do Brasil).

As amostras positivas foram inoculadas em tubos contendo ágar nutriente, incubados por 24 horas a 37°C e enviadas ao Setor de Enterobactérias do Instituto Adolfo Lutz de São Paulo/SP para sorotipificação.

4.3.2. Análise das amostras de ovos

Ao chegarem ao laboratório, os ovos foram imediatamente processados assepticamente (quebrados e homogeneizados). Cada amostra era formada pelo agrupamento de cinco ovos inteiros (casca e conteúdo). Dessa forma, de cada granja, foram analisadas 20 amostras, num total de 100 ovos/granja.

Sendo o ovo um meio rico em nutrientes e assim propício para multiplicação bacteriana, as etapas de pré-enriquecimento e enriquecimento seletivo não foram realizadas. Após a quebra e homogeneização dos ovos em frascos estéreis descartáveis, as amostras foram diretamente incubadas a 37°C por 18 a 24h.

A seguir as etapas de semeadura em placa, testes bioquímicos presuntivos e prova sorológica foram realizadas como descrito anteriormente nos itens 4.3.1.3 a 4.3.1.5, deste material e métodos.

V. RESULTADOS

Por meio da análise de mecônio presente nas caixas de transporte, no momento da chegada das aves de reposição à granja, pintinhas de um dia de idade foram monitoradas quanto à presença de *Salmonella* spp. Dos oito lotes inspecionados, quatro foram positivos para a bactéria. Isolou-se os sorovares *Salmonella* Mbandaka em lotes das granjas B, C, F e G, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* 4,12:r:- na granja C e o sorovar *Salmonella enterica* subsp. *enterica* 6,7: Z₁₀:- na granja G (Tabela 1). No total, 50% dos lotes de reposição que estavam chegando às granjas, estavam infectados com *Salmonella* spp. (Tabela 1).

Tabela 1. Número de amostras de suabe de caixa de transporte de pintinhas de um dia de vida positivas para *Salmonella* spp., pelo número total de amostras colhidas em cada granja.

Granja	<i>Salmonella</i>	Amostras Positivas/Total	Sorovar Isolado
A	-	-	-
B	+	3/3	<i>Salmonella</i> Mbandaka
C	+	5/6	<i>Salmonella</i> Mbandaka <i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> 4, 12: r: -
D	-	-	-
E	-	0/40	-
F	+	2/5	<i>Salmonella</i> Mbandaka
G	+	3/3	<i>Salmonella</i> Mbandaka <i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> 6, 7: Z ₁₀ : -
H	-	-	-
Total		13/57	

- Ausência de *Salmonella* spp.

+ Presença de *Salmonella* spp.

Amostras de fezes cecais frescas e ovos de galinhas para postura comercial foram analisados quanto à presença de *Salmonella* spp. Oito lotes foram selecionados, quatro não vacinados e quatro vacinados com bacterina oleosa contra SE.

Dos oito lotes avaliados, dois (granjas C e G) apresentaram positividade nas fezes cecais para *Salmonella* spp. Os sorovares isolados foram S. Enteritidis e S. Havana (Tabela 2). Na granja C, S. Havana foi isolada de aves com 55 semanas de vida e das quatro colheitas realizadas na granja G, SE foi isolada quando as aves estavam com 24 e 40 semanas de vida e S. Havana, em aves com 48 semanas de vida. (Tabela 2).

Tabela 2. Número de amostras de fezes frescas cecais positivas para *Salmonella* spp., pelo número total de amostras colhidas por lote, em granjas de galinhas para postura comercial do Estado de São Paulo.

	Granja	<i>Salmonella</i>	Amostras Positivas/Total	Sorovar Isolado Idade de isolamento
VACINADAS	A	-	0/16	-
	B	-	0/16	-
	C	+	1/16	<i>Salmonella</i> Havana 55 semanas
	D	-	0/16	-
NÃO VACINADAS	E	-	0/16	-
	F	-	0/16	-
	G	+	3/16	<i>Salmonella</i> Enteritidis 24 e 40 semanas <i>Salmonella</i> Havana 48 semanas
	H	-	0/16	-
Total			4/128	

+ Presença de *Salmonella* spp.

- Ausência de *Salmonella* spp.

Amostras de ovos sujos e quebrados provenientes de quatro granjas não vacinadas e quatro que utilizam bacterina oleosa contra SE, foram colhidas de forma aleatória, de cada uma das oito granjas selecionadas para este estudo. Cem amostras, correspondendo a oitocentos ovos, agrupados de cinco em cinco, foram analisadas, não se isolando *Salmonella* spp. em nenhuma delas.

A seguir estão descritos e separados por sorogrupos, todos os sorovares isolados no presente trabalho (Tabela 3).

Tabela 3. Sorovares de *Salmonella* spp. isolados de acordo com o sorogrupo, fórmula antigênica e tipo de amostra analisada.

Sorogrupo	Sorovar	Fórmula Antigênica	Tipo de Amostra	
			Caixa de transporte	Fezes cecais
(B)	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i>	4,12:r:-	+	-
(C1)	<i>S. Mbandaka</i>	6,7,14:z ₁₀ :e,n,z ₁₅ :[z ₃₇],[z ₄₅]	+	-
	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i>	6,7:z ₁₀ :-	+	-
(D1)	<i>S. Enteritidis</i>	1,9,12:g,m:-	-	+
(G)	<i>S. Havana</i>	1,13,23:f,g,[s]:-[z ₇₉]	-	+
Total de Sorogrupos		04		
Total de Sorovares		05		

+ Presença de *Salmonella* spp.

- Ausência de *Salmonella* spp.

VI. DISCUSSÃO

A epidemiologia das salmoneloses é complexa e envolve seres humanos, animais, ambiente e as interações entre esses. A salmonelose é uma infecção alimentar de seres humanos causada por bactérias do gênero *Salmonella*, sendo considerada uma zoonose de grande importância e um grande desafio para órgãos de vigilância sanitária responsáveis por saúde pública, em razão da elevada endemicidade, alta morbidade (HOFER et al., 1997) e acima de tudo pela dificuldade de controle nos plantéis acometidos (FOLEY et al., 2008).

Um dos mais importantes meios de introdução e persistência de *Salmonella* spp. em plantéis de galinhas para postura comercial, é a transmissão vertical. Galinhas reprodutoras transmitem via ovo, o patógeno para sua progênie (GAST & BEARD, 1990; RODRIGUE et al., 1990; LISTER, 1998). No incubatório também pode ocorrer contaminação cruzada entre ovos contaminados e não contaminados (CASON et al., 1994).

No programa de monitoria de uma empresa avícola, a pesquisa de *Salmonella* spp. deve abranger, além das aves reprodutoras, as máquinas de incubação e de eclosão. A monitoria bacteriológica auxilia no combate à transmissão de *Salmonella* spp. para as aves recém-nascidas. A análise microbiológica das caixas de transporte ainda no incubatório ou na chegada à granja, pode demonstrar a participação da via vertical na introdução do patógeno em criações avícolas (COX et al., 1991; COX et al., 2000).

Dos oito lotes de pintinhas para reposição de galinhas produtoras de ovos comerciais, avaliados neste estudo por meio da pesquisa de *Salmonella* spp. em amostras de suabe de caixa de transporte, obteve-se isolamento da bactéria em quatro, chamando a atenção para o fato de que 50% dos lotes de pintinhas de um dia de vida, estão chegando à granja infectadas com algum sorovar de *Salmonella* spp.

Relatos sobre o isolamento do patógeno em amostras de caixa de transporte de aves de um dia de vida têm sido variáveis, mas demonstram a participação da transmissão vertical de *Salmonella* spp. como um fator de introdução da bactéria na

granja. Dados demonstrando níveis de contaminação mais elevados que os encontrados na presente pesquisa constam nos trabalhos COX et al. (1990) que relatam 74% de isolamento em frangos de corte e ZANCAN et al. (2000) que verificaram positividade em 77% dos lotes analisados, com ressalva para *Salmonella* Mbandaka, que foi o mais comum entre os sorovares identificados.

Outros autores citam menor positividade de lotes. COX et al. (1991), relataram 12%. GAMA et al. (2003) obtiveram 33,3% e isolaram o sorovar Enteritidis e a cepa rugosa, de quatro dos 12 lotes de postura comerciais avaliados. Ao estudar frangos de corte, ROCHA et al. (2003), verificaram que 11,1% dos lotes de pintinhos estavam positivos para *Salmonella* spp. e desses 92,3% foram positivos para SE.

Além da via de transmissão vertical os sorovares S. Mbandaka, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* 4,12: r: - e *Salmonella enterica* subsp. *enterica* 6, 7: z₁₀: -, podem ser disseminados pela via horizontal, com destaque para os ingredientes utilizados na fabricação de ração para aves e roedores (HOFER et al., 1997; SOUZA et al., 2002; CARRIQUE-MAS et al., 2009).

A contaminação de aves no início da vida, por *Salmonella* spp., torna o controle da infecção mais difícil, tendo-se em vista que aves recém-nascidas são mais susceptíveis, podendo excretar a bactéria em grandes quantidades e por período de tempo mais longo (BARROW et al., 1988; COX et al., 1990). GAMA et al. (2003) demonstraram que lotes positivos no primeiro dia de vida permaneciam positivos até a fase adulta e isso, pode resultar em carne e conteúdo de ovos contaminados (LISTER, 1998).

Para GRIMONT et al. (2000) o “habitat” de espécimes do gênero *Salmonella* parece estar limitado ao trato digestivo de seres humanos e animais. Desse modo, a presença de *Salmonella* spp. em outros locais como água, alimento ou meio ambiente, seria decorrente de contaminação fecal.

Galinhas infectadas podem excretar intermitentemente cerca de 10⁸ células de *Salmonella*, por grama de fezes (BRYAN & DOYLE, 1995) e a cloaca, além de ser um órgão excretor, também é a via de passagem do ovo. Portanto, o ovo pode se

contaminar ao entrar em contato com as fezes, como demonstrou GAST & BEARD (1992) utilizando fezes contaminadas com SE.

No presente trabalho obteve-se o isolamento de *Salmonella* spp. nas fezes cecais provenientes de aves de 25% dos lotes avaliados, sendo isolados os sorovares S. Enteritidis e S. Havana, à semelhança de SALLES et al. (2008), que verificaram positividade em 25% dos lotes de aves para postura comercial pesquisados e, próximo ao encontrado por KOTTWITZ et al. (2008) que detectaram a bactéria em oito (23,0%) de 30 lotes examinados. Esses índices de positividade são superiores aos relatados por CASTELLAN et al. (2004) que encontraram positividade em 10,5% dos lotes de aves para postura de ovos de mesa na Califórnia, USA; por EFSA (2007a) que cita 20,4% de positividade para SE ou *Salmonella* Typhimurium (ST) em lotes de aves de postura criados na Europa; de SNOW et al. (2007), que isolaram SE, ST, S. Mbandaka, S. Havana, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* 4,12:d:- dentre outros, em 11,7% dos lotes de postura comercial, pesquisados no Reino Unido e mais recentemente, em lotes de frango de corte por SNOW et al. (2008), que relataram prevalência de 10,7%, com isolamento de S. Mbandaka e *Salmonella enterica* subsp. *enterica* 4,12:d:- .

Estudos que citam o isolamento de *Salmonella* Havana em fezes de aves produtoras de ovos para consumo são escassos. No presente estudo, esse sorovar foi isolado em fezes cecais de aves de dois, dos oito lotes pesquisados (granjas C e G). Porém, há diversos relatos de seu isolamento em farinhas de origem animal, utilizadas na fabricação de ração para aves de exploração comercial, o que pode ter servido de via de transmissão para essas aves (YOSHIMURA et al., 1979; BERCHIERI JÚNIOR et al., 1984; BERCHIERI JÚNIOR et al., 1989; HOFER et al., 1997; OKAMURA et al., 2001; DAVIES & BRESLIN, 2004).

Um fator limitante para o isolamento de *Salmonella* spp., em amostras fecais, é a presença de grande número de bactérias competidoras (AHO, 1992), que pode resultar em baixa prevalência da infecção no lote (ARNOLD et al., 2005). Para esses autores a análise de material fecal oriundo de várias aves, propicia melhores resultados do que a utilização de suabe de cloaca. Para eles “pool” de fezes aumenta as chances de conter material vindo de aves infectadas.

Segundo CARRIQUE-MAS & DAVIES (2008) a ocorrência da infecção e o número de organismos excretados, podem mudar ao longo da vida das aves, devendo-se levar em consideração que nenhum método ou amostragem alcançará 100% de sensibilidade no isolamento de *Salmonella* spp. Os autores citam também que em alguns casos, como por exemplo, quando lotes de aves de reposição já chegam à granja contaminados, SE pode persistir por vários ciclos de produção sem ser detectada.

A ocorrência de ovos positivos para *Salmonella* spp. há anos tem sido estudada. No Canadá, POPPE et al. (1998) ao analisar 1.512 ovos obtiveram porcentagem de 0,07 a 0,4% de amostras positivas para algum sorovar de *Salmonella* spp. Segundo EBEL & SCHLOSSER (2001), usando um modelo teórico, a cada 20.000 ovos produzidos anualmente nos Estados Unidos, um estaria contaminado com SE (0,005%).

No Brasil, OLIVEIRA & SILVA (2000) ao analisarem 124 amostras de ovos provenientes do comércio de Campinas/SP, obtiveram 9,6% das amostras de casca e 3,2% das amostras de gema positivas para SE, único sorovar isolado na pesquisa. GAMA et al. (2003) ao pesquisarem 500 ovos de cada um dos cinco lotes de aves produtoras de ovos para consumo, isolaram a bactéria em dois deles. Em um dos lotes, um ovo foi positivo para SE e para *Salmonella enterica* cepa rugosa (0,2%), no outro lote, dez ovos foram positivos para cepa rugosa (2%).

No presente estudo foram examinados 100 ovos de cada um dos lotes não vacinados e vacinados contra SE, sem que houvesse isolamento de *Salmonella* spp.

Apesar de diversos autores relatarem o isolamento de *Salmonella* spp. em amostras de ovos, na Turquia, foram realizadas diversas pesquisas e não houve citação da presença da bactéria em nenhuma delas (ARDA, 1968; ARIG-KİİÇÜKER et al., 1995; ATA, 2006). O não isolamento de *Salmonella* spp. em ovos na Turquia vai ao encontro com o resultado obtido neste estudo.

Para HUMPHREY (1994) e GAST (2003a), são inúmeros os fatores que podem contribuir para que a porcentagem de ovos positivos para *Salmonella* spp. seja variável. Fatores como tamanho da amostra, período de amostragem e técnica utilizada, seriam alguns deles. O autor ressalta que o isolamento em ovos se torna difícil se a população

bacteriana no produto for baixa. Também é preciso considerar se a contaminação dos ovos é oriunda de infecções naturais ou experimentais. Em aves artificialmente contaminadas, a porcentagem de ovos positivos varia de 0 a 27,5%, sendo maior que em aves naturalmente infectadas, que como foi relatado em trabalhos anteriores, varia de 0 a 2% (KELLER et al., 1995; OKAMURA et al., 2001).

Medidas de higiene e biossegurança aliadas à administração de forma adequada de bacterina oleosa contra SE nos lotes das granjas A, B, C e D, pode ter sido um fator adicional que contribuiu para a ausência de isolamento de SE em fezes e ovos. Em estudo realizado no Japão, TOYOTA-HANATANI et al. (2009), apesar de terem isolado SE de diversas amostras de fezes, de ovos e do meio ambiente provenientes de granjas contendo lotes de aves vacinadas e não vacinadas, a porcentagem de isolamento foi menor nos lotes onde a bacterina oleosa contra SE foi administrada. Segundo os autores, a vacinação contribuiu para reduzir a contagem do número de bactérias devido à transferência de anticorpos da ave para a gema e como consequência, houve redução dos riscos de infecção alimentar causados pelo sorovar Enteritidis.

O isolamento de *Salmonella* Havana em amostras de fezes do lote C, vacinado contra SE, pode ser explicado pela falta de proteção cruzada entre os sorogrupos.

Diversos estudos foram realizados para explorar os mecanismos de proteção cruzada entre sorovares e sorogrupos de *Salmonella* spp. quando a vacinação é utilizada (HASSAN & CURTIS, 1994; KINGSLEY & BÄUMLER, 2000)

Vacinas vivas conferem proteção cruzada entre sorovares pertencentes ao mesmo grupo sorológico porém, quando há desafio por cepas de diferentes sorogrupos, a vacina não é eficaz. COOPER et al. (1994) demonstraram que a vacinação com SE (sorogrupo D1), não protege contra a infecção por ST (sorogrupo B). Já estudos onde a vacina contra SG foi utilizada e houve desafio com SE, ambos pertencentes ao sorogrupo D1, a proteção foi efetiva (BARROW et al., 1990).

Em estudo realizado com bacterina oleosa contra SE, DAVIES & BRESLIN (2004), demonstram que mesmo em aves vacinadas pode ocorrer infecção por SE com excreção pelas fezes e contaminação dos ovos. Porém, segundo os autores, os

resultados obtidos sugerem eficácia da bacterina contra outros sorovares pertencentes ao sorogrupo D1, por não ter ocorrido o isolamento desses nas amostras de conteúdo cecal e de ovos. Contudo, não houve sucesso na tentativa de proteção contra os sorovares Typhimurium e *S. Agona* (sorogrupo B), *S. Infantis*, *S. Livingstone* e *S. Tennessee* (sorogrupo C1), *S. Anatum* (sorogrupo E1), *S. Newport* (sorogrupo C2), *S. Yoruba* (sorogrupo I) isolados no estudo.

Os sorovares isolados nesta pesquisa, principalmente Enteritidis, há tempos são associados a surtos de enfermidades transmitidas por produtos alimentícios de origem avícola como carne de aves e ovos. Diversos estudos correlacionam a presença de *Salmonella* spp. em plantéis de aves com isolados provenientes de carcaças de frango, ovos e de pacientes acometidos por infecção alimentar (ST LOUIS et al., 1988; STEVENS et al., 1989; CDC, 1990; EFSA, 2006; OTOMO et al., 2007; DUARTE et al., 2009).

Sorovar predominante em surtos alimentares, SE tem sido isolado tanto de aves como de seres humanos nos Estados Unidos, Alemanha, Itália e demais países europeus e na Argentina (CAFFER & EIGUER, 1994; SCUDERI et al., 1996; CDC, 2006; CDC, 2007).

No Brasil a situação é semelhante. SE foi isolada em 89,2% dos casos de infecção alimentar entre 1993 e 2003 (EDUARDO et al., 2004). No Estado do Paraná entre 1999 a 2004, ALCOCER (2004), observou que 89,8% das cepas de *Salmonella* spp. isoladas de alimentos envolvidos em surtos alimentares, eram do sorovar Enteritidis. De 25 cepas de *Salmonella* spp. isoladas de carcaças de frango, 18 (72%) foram identificados como SE (ALCOCER et al., 2006). Dados mais recentes divulgados pela Divisão de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar do Centro de Vigilância Epidemiológica também relatam SE como agente causador da maioria dos surtos ocorridos no Estado de São Paulo (DDTHA/CVE, 2009).

São ainda citados como agentes causadores de doenças transmitidas por alimentos, porém com menor frequência, o sorovar Mbandaka e sorovares dos mesmos sorogrupos a que pertencem às cepas isoladas no presente estudo (B, C1, D1 e G) e

apresentado na Tabela 3 (TAUNAY et al. 1996; TAVECHIO et al., 1996; FERNANDES et al., 2006; BASTOS et al., 2008).

A sorotipagem de isolados provenientes de alimentos responsáveis por causarem surtos de doenças alimentares no Estado do Paraná entre 1999 e 2004, comprovam a presença dos sorovares Newport (sorogrupo C2) e Mbandaka que representaram respectivamente 5,0% e 0,60% e o sorovar Infantis com 1,9% das cepas isoladas de pacientes com intoxicação alimentar (ALCOCER, 2004). Em um outro estudo, ALCOCER et al. (2006), isolaram *Salmonella* Braenderup (sorogrupo C1) em 16% das amostras de carcaças de frango, *Salmonella* Worthington (sorogrupo G) em 8,0% e *Salmonella* Infantis (sorogrupo C1) em 4,0%. Em estudos mais recentes, KOTTWITZ et al. (2008) e LIMA et al. (2009) relataram a presença dos sorovares Mbandaka e Havana em amostras de fezes e carcaças de aves.

Para diversos autores as diferenças na geografia, no clima, nas práticas de produção de ovos e manejo dos lotes de uma determinada região, refletem na presença de diferentes sorovares de *Salmonella* spp. em aves e seres humanos (ALTEKREUSE et al., 1993; KHAKHARIA et al., 1997; ANGULO & SWERDLOW, 1999).

A legislação existente hoje no Brasil, está direcionada para o controle de quatro sorovares de *Salmonella* (Gallinarum, Pullorum, Enteritidis e Typhimurium) em lotes de aves reprodutoras de linhas puras, bisavós e avós que devem ser livres desses patógenos, e em lotes de aves matrizes, que podem ser controlados para SE e ST. Já para lotes de aves para postura comercial de ovos ou lotes de frango de corte a legislação é mais branda, uma vez que, são de controle eventual para esses sorovares (BRASIL, 2003). A legislação vigente não contempla os demais sorovares.

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que além da SE, outros sorovares estão presentes nas granjas de aves para postura comercial de ovos. Sorovares que possivelmente estão sendo introduzidos por aves de um dia de vida, provenientes de incubatórios ou de granjas reprodutoras contaminadas.

Embora não tenha sido isolado *Salmonella* spp. nas amostras de ovos analisadas, a presença de SE nas fezes de galinhas em período de produção é um

outro fator importante a ser considerado. Lotes infectados são, para a saúde de seres humanos, um risco pois, podem produzir ou contaminar os ovos com as fezes.

Apesar da ausência de SE em lotes vacinados, recomenda-se sempre associar vacinação com desinfecção, uso de produtos de exclusão competitiva ou de ácidos orgânicos na ração, e se possível, monitoramento bacteriológico das aves e ambiente. Contudo, mais estudos a campo são necessários para uma melhor avaliação da utilização de bacterina oleosa contra SE com a ocorrência de sorovares em criações de galinhas para postura comercial de ovos.

VII. CONCLUSÕES

*Os dados obtidos neste estudo sugerem que há falhas nos programas de monitoria e biossegurança das granjas matrizes e incubatórios;

*Demonstram infecção das galinhas e presença de *Salmonella* spp. no ambiente das granjas de postura comercial pesquisadas;

*Sugerem que medidas de higiene e biossegurança associadas à vacinação contra SE podem ter contribuído para ausência deste sorovar nos lotes de galinhas vacinados.

VIII. REFERÊNCIAS

AHO, M. Problems of *Salmonella* sampling. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 15, n. 3, p. 225-235, 1992.

ALCOCER, I. **Sorotipagem, fagotipagem, caracterização molecular de cepas de *Salmonella* spp. e avaliação epidemiológica de surtos ocorridos no Paraná de 1999 a 2004.** 2004. 218f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Departamento de Tecnologia de Alimentos e Medicamentos, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2004.

ALCOCER, I.; OLIVEIRA, K. M. P.; VIDOTTO, M. C.; OLIVEIRA, T. C. R. M. Discriminação de sorovares de *Salmonella* spp. isolados de carcaças de frango por REP e ERIC-PCR e fagotipagem do sorovar Enteritidis. **Ciência e Tecnologia Alimentar**, Campinas, v. 26, n. 2, p. 414-420, 2006.

ALTEKREUSE, S.; KOEHLER, J.; HICKMAN-BRENNER, F.; TAUXE, R. V.; FERRIS, K. A comparison of *Salmonella* enteritidis phage types from egg-associated outbreaks and implicated laying flocks. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, v.11, n. 3, p. 17-22, 1993.

ANGULO, F. J.; SWERDLOW, D. L. Epidemiology of human *Salmonella* enterica serovar enteritidis infections in the United States. In: SAEED, A. M.; GAST, R. M.; POTTER, M. R. (Eds.) *Salmonella* enterica serovar enteritidis in humans and animals: epidemiology, patho- genesis, and control. Ames: Iowa State University Press, 1999, p. 33-41.

ARDA, M. Bacteriological and virological studies on dead embryonated and without embryonated eggs in incubators. **Veteriner Fakültesi Yayınları**, Ankara, v. 227, p. 28-31, 1968.

ARIG-KÜÇÜKER, M.; KIMIRAN, A.; BAL, C. Isolation of *S. enteritidis* from meat and eggs of flocks. **Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti**, Dergisi, v. 23, p. 138-141, 1995.

ARNOLD, M.; COOK, A.; DAVIES, R. M. A modelling approach to estimate the sensitivity of pooled faecal samples for isolation of *Salmonella* in pigs. **Journal of the Royal Society Interface**, London, v. 2, p. 365-372, 2005.

ATA, Z. Isolation of *Salmonella* spp. from layers flocks in Ankara region. In: NATIONAL CONGRESS OF VETERINARY MICROBIOLOGY (with international guest speakers); 7., 2006, Side Antalya, Turkey.

BABU, U.; DALLOUL, R. A.; OKAMURA, M.; LILLEHOJ, H. S.; XIE, H.; RAYBOURNE R.B. et al. *Salmonella enteritidis* clearance and immune responses in chickens following *Salmonella* vaccination and challenge. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v.101, n. 3, p. 251-257, 2004.

BAILEY, J. S. Controle de *Salmonella* em incubatório. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA, 2000, Campinas. **Anais...** Campinas: FACTA, 2000. p. 32-39.

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

BARROW, P. A. The paratyphoid Salmonellae. **Review Science Technology Office International Epizootic**, Paris, v. 19, p. 351-375, 2000.

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

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

BARROW, P. A.; LOVELL, M. A.; BERCHIERI, A. Immunization of laying hens against *Salmonella* Enteritidis with live attenuated vaccines. **Veterinary Record**, London, v. 126, p. 241-242, 1990.

BARROW, P. A.; SIMPSON, J. M.; LOVELL, M. A. Intestinal colonization in the chicken by food-poisoning *Salmonella* serotypes: microbial characteristics associated with excretion. **Avian Pathology**, Cambs, v. 17, p. 571-588, 1988.

BASKERVILLE, A.; HUMPHREY, T. J.; FITZGEORGE, R. B.; COOK, R. W.; CHART, H.; ROWE, B.; WHITEHEAD, A. Airborne infection of laying hens with *Salmonella enteritidis* phage type 4. **Veterinary Record**, London, v. 130, p. 395-398, 1992.

BASTOS, F. C.; LIMA, K. V. B.; SÁ, L. L. C.; SOUZA, C. O.; LOPES, M. L.; RAMOS, F. L. P. Variabilidade genética de amostras de *Salmonella* Typhi isoladas de surtos e de casos esporádicos ocorridos em Belém, Brasil. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 44, n. 4, p. 271-276, 2008.

BENNET, G. Crockroaches as carriers of bacteria. **Lancet**, United Kingdom, v.341, p. 732, 1993.

BERCHIERI JÚNIOR, A.; ADACHI, S. Y.; CALZADA, C. T.; PAULILLO, A. C., SCHOKEN-ITURRINO, R. P.; TAVECHIO, A. T. Farinha de carne como fonte de *Salmonella* em granja avícola. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 9, n.1, p. 9-12, 1989.

BERCHIERI JÚNIOR, A.; FREITAS NETO, O. C. Salmoneloses aviárias. In: BERCHIERI JÚNIOR, A.; SILVA, E. N.; DI FÁBIO, J.; SESTI, L.; ZUANAZE, M. A. F. **Doenças das aves**. 2. ed. Campinas: FACTA, 2009. seção. 4, p. 435-454.

BERCHIERI JÚNIOR, A.; IRINO, I.; NEME, S. N.; PAULILLO, A. C.; CALZADA, C. T. FERREIRA, S.; PESSÔA, G. V. A. Contaminação por *Salmonella* em farinhas de origem animal no preparo de ração. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 4, n.3, p. 83-88, 1984.

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

BERNDT, A.; WILHELM, A.; JUGERT, C.; PIEPER, J.; SACHSE, K.; METHNER, V. Chicken Cecum Immune Response to *Salmonella* Enterica Serovars of Different Levels of Invasiveness. **Infection and Immunity**, Washington, v. 75, n. 12, p. 5993-6007, 2007.

BERSOT, L. S. ***Salmonella* no Brasil: sua importância no abate de aves**. In: V SIMPÓSIO DE SANIDADE AVÍCOLA DA UFSM, 5, 2006, Santa Maria, RS. **Anais...** Santa Maria: UFSM, 2006. p. 90-94.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Programa Nacional de Sanidade Avícola. Instrução Normativa 78. **Diário oficial da União, República Federativa do Brasil**, Brasília – DF, 5 nov. 2003, edição número 215.

BRYAN, F. L.; DOYLE, M. P. Health risks and consequences of *Salmonella* and *Campylobacter jejuni* in raw poultry. **Journal of Food Protection**, Amsterdam, v. 58, n. 3, p. 323-344, 1995.

BULLIS, K. L. The history of avian medicine in the US III. Salmonellosis. **Avian Diseases**, Kennett Square, v. 21, p. 430-435, 1977.

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

CARRIQUE-MAS, J. J.; BRESLIN, M.; SNOW, L.; McLAREN, I.; SAYERS, A. R.; DAVIES, R. H. Persistence and clearance of different *Salmonella* serovars in buildings housing laying hens. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, v. 137, p. 837-846, 2009.

CARRIQUE-MAS, J. J.; DAVIES, R. H. *Salmonella* Enteritidis in commercial layer flocks in Europe: Legislative background, on-farm sampling and main challenges. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v. 10, n. 1, 2008.

CASON, J. A.; COX, N. A.; BAILEY, J. S. Transmission of *Salmonella* Typhimurium during hatching of broiler chicks. **Avian Diseases**, Kennett Square, v. 38, n. 3, p. 583-588, 1994.

CASTELLAN, D. M.; KINDE, H.; KASS, P. H.; CUTLER, G.; BREITMEYER, R. E.; BELL, D. D.; ERNST, R. A.; KERR, D. C.; LITTLE, H. E.; WILLOUGHBY, D.; RIEMANN, H. P.; ARDANS, A.; SNOWDON, J. A.; KUNEY, D. R. Descriptive Study of California Egg Layer Premises and Analysis of Risk Factors for *Salmonella enterica* serotype *enteritidis* as Characterized by Drag Swabs. **Avian Diseases**, Kennett Square, v. 48, n. 3, p. 550-561, 2004.

CDC-Centers for Disease Control. Update: *Salmonella enteritidis* infections and shell eggs. **Morbidity Mortality Weekly Report**, Atlanta, v. 39, n. 50, p. 902-12, 1990.

CDC-Centers for Disease Control. *Salmonella* Surveillance: annual summary. 2005. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention, 2006.

CDC-Centers for Disease Control. Three outbreaks of salmonellosis associated with baby poultry from three hatcheries - United States, 2006. **Morbidity Mortality Weekly Report**, Atlanta, v. 56, p. 273-276, 2007.

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

COGAN, T. A.; HUMPHREY, T. J. The rise and fall of *Salmonella* Enteritidis in the UK. **The Journal of General and Applied Microbiology**, Oxford, Supp. 94, p. 114-119, 2003.

COOPER, G. L.; VENABLES, L. M.; WOODWARD, M. J.; HORMAECHÉ, C. E. Vaccination of chickens with strain CVL30, a genetically defined *Salmonella enteritidis* *aroA* live oral vaccine candidate. **Infectin and Immunity**, Washington, v. 62, p. 4747-4754, 1994.

COSTALUNGA, S.; TONDO, E. C. Salmonellosis in Rio Grande do Sul, Brazil, 1977-1999. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 33, p. 342-346, 2002.

COX, N. A.; BAILEY, J. S.; MAULDIN, J. M. Presence and impact of *Samonella* contamination in commercial broiler hatcheries. **Poultry Science**, Savoy, v. 69, p. 1606-1609, 1990.

COX, N. A.; BAILEY, J. S.; MAULDIN, J. M. Extent of Salmonellae contamination in breeder hatcheries. **Poultry Science**, Savoy, v. 70, p. 416-418, 1991.

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

DAVIES, R. H. *Salmonella* – the feedstuff connection. Proceedings of the Society of Veterinary Epidemiology and Preventive Medicine, Edinburgh, p. 47-59, 1992.

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**, Washington, v. 5, p. 79-84, 2003.

DAVIES, R. H.; BRESLIN, M. Observation on *Salmonella* contamination of eggs from infected commercial laying flocks where vaccination for *Salmonella enterica* serovar *enteritidis* has been used. **Avian Pathology**, Cambs, v. 33, n. 4, p. 133-144, 2004.

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

DAVIES, R. H.; WRAY, C. Determination of an affective sampling regime to detect *Salmonella* Enteritidis in the environment of poultry units. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 50, p. 117-127, 1996.

DAVISON, S.; BENSON, C. E.; HENZLER, D. J.; ECKROADE, R. J. Field observations with *Salmonella* Enteritidis bacterins. **Avian Diseases**, Kennett Square, v. 43, n. 4, p. 664-669, 1999.

DDTHA/CVE-Divisão de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar/Centro de Vigilância Epidemiológica. Disponível em:
<http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/hidrica/hidri_estat.html>. Acesso em: 10 set. 2009.

DETMER, A.; GLENTING, J. Live bacterial vaccines- a review and identification of potential hazards. **Microbial Cell Factories**, Catalunha, v. 5, p. 23-34, 2006. Disponível em: <<http://microbialcellfactories.com>>. Acesso em: 8 out. 2007.

DUARTE, D. A. M.; RIBEIRO, A. R.; VASCONCELOS, A. M. M.; SANTOS, S. B.; SILVA, J. V.; ANDRADE, P. L. A.; FALCÃO, L. S. P. C. A. Occurrence of *Salmonella* spp. in broiler chicken carcasses and their susceptibility to antimicrobial agents. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 40, p. 569-573, 2009.

DUNKLEY, K. D.; CALLAWAY, T. R.; CHALOVA, V. I.; McREYNOLDS, J. L.; HUME, M. E.; DUNKLEY, C. S.; KUBENA, L. F.; NISBET, D. J.; RICKE, S. C. Foodborne *Salmonella* ecology in the avian gastrointestinal tract. **Anaerobe**, London, v. 15, p. 26-35, 2009.

EBEL, E.; SCHLOSSER, W. D. Estimating the annual fraction of eggs contaminated with *Salmonella* Enteritidis in the United States. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 61, n. 1, p. 51-62, 2001.

EDUARDO, M. B. P.; KATSUYA, E. M.; BASSIT, N. P.; MELLO, M. L. R. *Salmonella* Enteritidis - Uma Importante Causa de Surtos Bacterianos Veiculados por Alimentos e a Necessidade de uma Nova Regulamentação Sanitária para os Alimentos Implicados, São Paulo, Brasil, 1999-2003. **Boletim Epidemiológico Paulista, São Paulo**, v. 1, n.8, 2004. Disponível em: <http://www.cve.saude.sp.gov.br/agencia/bepa8_edito.htm>. Acesso em: 06 set. 2007.

EFSA-European Food Safety Authority. Analysis of the baseline study on the prevalence of *Salmonella* in laying hen flocks of *Gallus gallus*. **EFSA Journal**, v. 81, p. 1-71, 2006. Disponível em <<http://www.efsa.eu.in>> . Acesso em: 15 jun. 2008.

EFSA-European Federation of Sea Anglers. The community summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents, antimicrobial resistance and foodborne outbreaks in European Union in 2006. **EFSA Journal**, v. 130, p. 1-2, 2007. Disponível em <<http://www.efsa.eu.in>> . Acesso em: 03 ago. 2008.

EFSA-European Food Safety Authority. Report of the task force on zoonoses data collection on the analysis of the baseline survey on the prevalence of *Salmonella* in broiler flocks of *Gallus gallus*, in the EU, 2005-2006. **EFSA Journal**, v. 98, p. 1-85, 2007a. Disponível em <<http://www.efsa.eu.in>> . Acesso em: 04 nov. 2008.

EFSA-European Food Safety Authority. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses and Zoonotic Agents in the European. **EFSA Journal**, 2009. Disponível em: <http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale1178620753812_1211902515341.htm>. Acesso em: 18 mai. 2009.

EJIDOKUM, O.O.; KILLALEA, D.; COOPER, M. HOLMYARD, S.; CROSS, A.; KEMP, C. Four linked outbreaks of *Salmonella* enteritidis phage type 4 infection: The continuing egg threat. **Communicable Disease and Public Health**, Atlanta, v. 3, p. 95-100, 2000.

FERNANDES, S. A.; TAVECHIO, A. T.; GHILARDI, C. R.; DIAS, A. M. G.; ALMEIDA, I. A. Z. C.; MELO, L. C. V. *Salmonella* serovars isolated from humans in São Paulo state, Brazil, 1993-2003. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 48, n. 4, p. 179-184, 2006.

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

FOLEY, S. L.; LYNNE, A. M.; NAYAK, R. *Salmonella* challenges: Prevalence in swine and poultry and potential pathogenicity of such isolates. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 86, p. E149-E162 suppl., 2008.

FORSHELL, L. P.; WIERUP, M. *Salmonella* contamination: a significant challenge to the global marketing of animal foods products. **Revue Scientifique Technique Office International des Epizooties**, Paris, v. 25, n. 2, p. 541-554, 2006.

GAMA, N. M. S. Q.; BERCHIERI JÚNIOR, A.; FERNANDES, S. A. Occurrence of *Salmonella* sp in laying hens. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v. 5, n. 1, p. 15-21, 2003.

GANTOIS, I.; DUCATELLE, R.; PASMANS, F.; HAESEBROUK, F.; GAST, R.; HUMPHREY, T. J.; VAN IMMERSEEL, F. Mechanisms of egg contamination by *Salmonella* Enteritidis. **FEMS Microbiology Review**, Amsterdam, v. 33, n. 4, p. 718-738, 2009.

GAST, R. K. *Salmonella* infections. In: CALNEK, B. W.; BARNES, H. J.; BEAR, C. W. (Ed). **Diseases of poultry**. 11th ed. Ames: Iowa University Press, 2003. cap. 16, p. 567- 613.

GAST, R. K. Detection of *Salmonella* Enteritidis in experimentally infected laying hens by culturing pools of eggs contents. **Poultry Science**, Savoy, v. 72, n. 2, p. 267-274, 2003a.

GAST, R. K. Serotype-Specific and Serotype-Independent Strategies for Preharvest Control of Food-borne *Salmonella* in Poultry. **Avian Diseases**, Kennett Square, v. 51, n. 4, p. 817-828, 2007.

GAST, R. K.; BEARD, C. W. Production of *Salmonella enteritidis*-contaminated eggs by experimentally infected hens. **Avian Diseases**, Kennett Square, v. 34, n. 2, p. 438-446, 1990.

GAST, R. K.; BEARD, C. W. Detection and enumeration of *Salmonella enteritidis* in fresh and stored eggs laid by experimentally infected hens. **Journal of Food Protection**, v. 55, n. 3, p. 152-156, 1992.

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

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

GAUGER, H. C.; GREAVES, R. E. Isolations of *Salmonella Typhimurium* from drinking water in an infected environment. **Poultry Science**, Savoy, v. 25, p. 476-478, 1946.

GOLDEN, N. J.; MARKS, H. H.; COLEMAN, M. E.; SCHROEDER, C. M.; BAUER JR, N. E.; SCHLOSSER, W. D. Review of induced molting by feed removal and

contamination of eggs with *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 131, n. 3, p. 215-228, 2008.

GRIMES, T. M. Observations on *Salmonella* infections of birds. **Australian Veterinary Journal**, Australia, v. 55, n. 1, p. 16-18, 1979.

GRIMONT, P. A. D.; GRIMONT, F.; BOUVET, P. Taxonomy of the Genus *Salmonella*. In: WRAY, C.; WRAY, A. ***Salmonella in domestic animals***, New York: CABI Publishing, 2000. cap.1, p. 1-17.

GRIMONT, P. A. D.; WEILL, F. **Antigenic Formulae of the *Salmonella* Serovars**. 9th ed. Paris: WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella* Institute Pasteur, 2007.

GUTHRIE, R.K. *Salmonella*. CRC Press, Boca Raton, Florida, p. 1-20, 1992.

HARBAUGH, E.; TRAMPEL, D.; WESLEY, I.; HOFF, S.; GRIFFITH, R.; HURD, H. S. Rapid aerosol transmission of *Salmonella* among turkeys in a simulated holding-shed environment. **Poultry Science**, Savoy, v. 85, n. 10, p. 1693-1699, 2006.

HASSAN, J. O.; CURTIS, R. III. Development and evaluation of an experimental vaccination program using a live avirulent *Salmonella typhimurium* strain to protect immunized chickens against challenge with homologous and heterologous *Salmonella* serotypes. **Infection and Immunity**, Washington, v. 62, n. 12, p. 5519-5527, 1994.

HAYES, S.; NYLEN, G.; SMITH, R.; SALMON, R. L.; PALMER, S. R. Undercooked hens eggs remain a risk factor for sporadic *Salmonella enteritidis* infection. **Communicable Diseases and Public Health**, Atlanta, v. 2, n. 1, p. 66-67, 1999.

HEALING, T. D. *Salmonella* in rodents: a risk to man? **Communicable Diseases Review**, Atlanta, v. 1, n. 10, p. 114-116, 1991.

HEALING, T. D.; GREENWOOD, M. H. Frequency of isolation of *Campylobacter* spp., *Yersinia* spp. and *Salmonella* spp. from small mammals in two sites in southern Britain. **International Journal of Environmental Health Research**, v. 1, p. 54-62, 1991.

HENZLER, D. J.; OPITZ, H. M. The role of Mice in the Epizootiology of *Salmonella* Enteritidis Infection on Chicken Layer Farms. **Avian Diseases**, Kennett Square, v. 36, n. 3, p. 625-631, 1992.

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

HOLLINGER, K. Epidemiology and Salmonellosis. . In: WRAY, C.; WRAY, A. ***Salmonella* in domestic animals**. New York: CABI Publishing, 2000. cap. 20, p. 341-353.

HOLT, P. S. Molting and *Salmonella Enterica* serovar Enteritidis Infection: The Problem and Some Solutions. **Poultry Science**, Savoy, v. 82, n. 6, p. 1008-1010, 2003.

HOLT, P. S.; GEDEN, C. J.; MOORE, R. W.; GAST, R. K. Isolation of *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis from Houseflies (*Musca domestica*) Found in Rooms Containing *Salmonella* Serovar Enteritidis-Challenged Hens. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, p. 6030-6035, 2007.

HOLT, P. S.; PORTER JÚNIOR, R. E. Effect of induced molting on the course of infection and transmission of *Salmonella* Enteritidis in White Leghorn hens of different ages. **Poultry Science**, Savoy, v. 71, n. 11, p. 1842-1848, 1992.

HUGH-JONES, M. E.; HARVEY, R. W. S.; McCOY, J. H. A. *Salmonella* California contamination of a turkey feed concentrate. **British Veterinary Journal**, London, v. 131, n. 6, p. 673-680, 1975.

HUMPHREY, T. J. Contamination of eggs Shell and contents with *Salmonella enteritidis*: a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 21, n. 1, p. 31-40, 1994.

INOUE, A. Y. **Estudo da imunidade passiva em progênie de aves vacinadas com bacterinas contra *Salmonella* Enteritidis**. 2006. 80f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária – Patologia Animal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006.

JAY, J. M. **Modern food microbiology**. Maryland: Aspen Publishers, 2000. 635 p.

JOHNSON-DELANEY, C. A. Reptile zoonoses and threats to public health. In: MADER, D. R. **Reptile medicine and surgery**, Philadelphia: W. B. Saunders, 1996. p. 20-30.

JONES, Y. E.; McLAREN, I. M.; WRAY, C. Laboratory Aspects of *Salmonella*. In: WRAY, C.; WRAY, A. ***Salmonella* in domestic animals**. New York: CABI Publishing, 2000. cap. 23, p. 393-405.

KELLER, L. H.; BENSON, C. E.; KROTEK, K.; ECKROADE, R. J. *Salmonella enteritidis* colonization of the reproductive tract and forming and freshly laid eggs of chickens. **Infection and Immunity**, Washington, v. 63, n. 7, p. 2443-2449, 1995.

KHAKHARIA, R.; WOODWARD, D.; JOHNSON, W. M.; POPPE, C. *Salmonella* isolated from humans, animals and others sources in Canada. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, v. 119, p. 15-23, 1997.

KINDE, H.; CASTELLAN D. M.; KASS, P. H.; ARDANS, A.; CUTLER, G.; BREITMEYER, R. E.; BELL, D. D.; ERNST, R. A.; KERR, D. C.; LITTLE, H. E.; WILLOUGHBY, D.; RIEMANN, H. P.; SNOWDON, J. A.; KUNEYK, D. R. The Occurrence and Distribution of *Salmonella* Enteritidis and Other Serovars on California Egg Laying Premises: A Comparison of Two Sampling Methods and Two Culturing Techniques. **Avian Diseases**, Kennett Square, v. 48, n. 3, p. 590-594, 2004.

KINGSLEY, R. A.; BÄUMLER, A. J. Host adaptation and the emergence of infectious disease: the *Salmonella* paradigm. **Molecular Microbiology**, Oxford, v. 36, n. 5, p. 1006-1014, 2000.

KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.D.; JANDA, W.M.; SCHRECKENBERGER, P.C.; WINN Jr., W.C. **Diagnóstico microbiológico**. 5.ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 2001. 1465p.

KOPANIC, R. J.; SHELDON, B. W.; WRIGHT, C. G. Cockroaches as vectors of *Salmonella*: laboratory and field trials. **Journal of Food Protection**, Amsterdam, v. 57, n. 2, p. 125-131, 1994.

KOTTWITZ, L. B. M.; BACK, A.; LEÃO, J. A.; ALCOCER, I.; KARAN, M.; OLIVEIRA, T. C. R. M. Contaminação por *Salmonella* spp em uma cadeia de produção de ovos de uma integração de postura comercial. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, n. 2, p. 496 – 498, 2008.

LANDGRAF, M.; FRANCO, B. D. G. M. Doenças microbianas de origem alimentar provocadas por enteropatógenos. **Revista Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 1, n. 17, p. 77-113, 1996.

LE MINOR, L.; POPOFF, M. Y. Designation of *Salmonella* enterica sp. nov., nom. rev., as the Type and Only Species of the Genus *Salmonella*. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Washington, v. 37, n. 4, p. 465-468, 1987.

LE MINOR, L.; VERON, M.; POPOFF, M. Y. Taxonomie des *Salmonella*. **Annales de Microbiologie**, Paris, v. 113B, p. 223-243, 1982.

LILLEHOJ, E. P.; YUN, C. H.; LILLEHOJ, H. S. Vaccines against the avian enteropathogens *Eimeria*, *Cryptosporidium* and *Salmonella*. **Animal Health Research Reviews**, Cambridge, v.1, n.1, p. 47-65, 2000.

LIMA, E. T.; ANDREATTI FILHO, R. L.; PINTO, J. P. A. N. Perfil de susceptibilidade antimicrobiana de sorotipos de *Salmonella* isolados de produtos avícolas. **Veterinária e Zootecnia**, Botucatu, v. 16, n. 2, p. 394-400, 2009.

LISTER, S. A. *Salmonella* Enteritidis infection in broilers and broiler breeders. **Veterinary Record**, London, v. 123, n. 13, p. 350, 1998.

LOPES, L. F. L. ***Salmonella* sp. em répteis e aves silvestres no Estado de São Paulo: frequência de isolamento, caracterização dos isolados e as consequências para o manejo em cativeiro e reintrodução.** 2008. 123f. Dissertação (Mestrado em Veterinária e Zootecnia) – Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Patologia, São Paulo, 2008.

MACNAB, R. M. Flagella. In: NEIDHARDT, F. C.; INGRAHAM, J. L.; LOW, K. B., MAGASANIK, B.; SCHAECHTER, M.; UMBERGER, H. E. ***Escherichia coli* and *Salmonella* Typhimurium: cellular and molecular biology.** Washington: American Society for Microbiology, 1987, v. 1, p. 70-83.

MIRANDA, J. B. N.; PESSOA, G. V. A.; IRINO, K.; CALZADA, C. T. Ocorrência de *Salmonella* em farinhas utilizadas como matérias-primas na composição de rações animais. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 32, n. 2, p. 157-160, 1978.

MOTA, C. C. S.; VIEIRA, H. R. A.; PUZYNA, I. P.; KALACHE, J.; KONOLSAISEN, J. F.; CAMARGO, N. J. Toxi-infecção alimentar por *Salmonella* Enteritidis: relato de um surto ocorrido em Curitiba-PR, Brasil/julho de 1981. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 2, n. 3, p. 123-131, 1983.

MURRAY, C. J. Environmental Aspects of *Salmonella*. In: WRAY, C.; WRAY, A. ***Salmonella in domestic animals***. New York: CABI Publishing, 2000. cap.16, p. 265-282.

NAKAMURA, M.; NAGAMINE, N.; TAKAHASHI, T.; SUZUKI, S.; SATO, S. Evaluation of the Efficacy of a Bacterin against *Salmonella enteritidis* Infection and the Effect of Stress after vaccination. **Avian Diseases**, Kennett Square, v. 38, n. 4, p. 717-724, 1994.

OIE - Escritório Internacional de Epizootias. **Salmonellosis**. Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. 5. ed., 2004. Disponível em: <http://www.oie.int/ing/normes/mmanual/A_00129.htm>. Acesso em: 14 jul. 2009.

OKAMURA, M.; KAMIJIMA, Y.; MIYAMOTO, T.; TANI, H.; SASAI, K.; BABA, E. Differences among six *Salmonella* serovars in abilities to colonize reproductive organs and to contaminate eggs in laying hens. **Avian Diseases**, Kennet Square, v. 45, n. 1, p. 61-69, 2001.

OKAMURA, M.; LILLEHOJ, H. S.; RAYBOURNE, R. B.; BABU, U. S.; HECKERT, R. A. Cell-mediated immune responses to a killed *Salmonella enteritidis* vaccine: lymphocyte proliferation, T-cell changes and interleukin-6 (IL-6), IL-1, IL-2, and IFN- γ production. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, Oxford, v. 27, n. 4, p. 255-272, 2004.

OKAMURA, M.; TACHIZAKI, H.; KUBO, T.; KIKUCHI, S.; SUZUKI, A.; TAKEHARA, K.; NAKAMURA, M. Comparative evaluation of a bivalent killed *Salmonella* vaccine to

prevent egg contamination with *Salmonella enterica* serovars Enteritidis, Typhimurium, and Gallinarum biovar Pullorum, using 4 different challenge models. **Vaccine**, Kidlington, v. 25, p. 4837-4844, 2007.

OLSEN, A. R.; HAMMACK, T. S. Isolation of *Salmonella* spp. From the housefly, *Musca domestica* L., and the dump fly, *Hidrotaea aenescens* (Wiedemann) (Diptera: Muscidae), at caged-layer houses. **Journal Food Protection**, Amsterdam, v. 63, n. 7, p. 958-960, 2000.

OLIVEIRA, D. D.; SILVA, E. N. Salmonela em ovos comerciais: ocorrência, condições de armazenamento e desinfecção da casca. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 52, n. 6, 2000. Disponível em:<http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010209352000000600017&script=sci_arttext&lng=pt>. Acesso em: 15 ago. 2009.

OTOMO, Y.; ABE, K.; ODAGIRI, K.; SHIROTO, A.; TAKATORI, K.; HARA-KUDO, Y. Detection of *Salmonella* in Spent Hens and Eggs Associated with Foodborne Infections. **Avian Diseases**, Kennett Square, v. 51, n. 2, p. 578-583, 2007.

PATRICK, M. E.; ADCOCK, P. M.; GOMEZ, T. M.; ALTEKRUSE, S. F.; HOLLAND, B. H.; TAUXE, R. V.; SWERDLOW, D. L. *Salmonella* Enteritidis infections, United States, 1985-1999. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 10, n. 1, p. 1-7, 2004.

POPPE, C. *Salmonella* Infections in the Domestic Fowl. In: WRAY, C.; WRAY, A. **Salmonella in domestic animals**. New York: CABI Publishing, 2000. cap. 7, p. 107-132.

POPPE, C.; DUNCAN, C. L.; MAZZOCCO, A. Salmonella contamination of hatching and table eggs: A comparison. **Canadian Journal of Veterinary Research**, Atlanta, v. 62, n. 3, p. 191-198, 1998.

REEVES, M. W.; EVINS, G. M.; HEIBA, A. A.; PLIKAYTIS, B. B.; FARMER, J. J. Clonal nature of *Salmonella* Typhi and its genetic relatedness to other salmonellae s shown by multilocus enzyme eletrophoresis, and proposal of *Salmonella* bongori com. nov. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 27, n. 12, p. 313-320, 1989.

REEVES, P. R.; HOBBS, M.; VALVANO, M. A.; SKURNIK, M.; WHITFIELD, C.; COPLIN, D.; KIDO, N.; KLENA, J.; MASKELL, D.; RAETZ, C. R. H.; RICK, P. D. Bacterial polysaccharide synthesis and gene nomenclature. **Trends in Microbiology**, Oxford, v. 4, n. 12, p. 495-503, 1996.

RICKE, S. C. The Gastrointestinal Tract Ecology of *Salmonella* Enteritidis Colonization in Molting Hens. **Poultry Science**, Savoy, v. 82, n. 6, p. 1003-1007, 2003.

ROCHA, P. T.; MESQUITA, A. J.; ANDRADE, M. A.; LOULY, P. R.; NASCIMENTO, M. N. *Salmonella* spp. em forros de caixa de transporte e órgãos de pintos de um dia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 55, n. 6, p. 672-676, 2003.

ROCHE, A. J.; COX, N. A.; RICHARDSON, L. J.; BUHR, J. R.; CASON, J. A.; FAIRCHILD, B. D.; HINKLE, N. C. Transmission of *Salmonella* to broilers by contaminated larval and adult lesser mealworms, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Poultry Science**, Savoy, v. 88, n. 1, p. 44-48, 2009.

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

RYCROFT, A. N. Structure, Function and Synthesis of Surface Polysaccharides in *Salmonella*. In: WRAY, C.; WRAY, A. ***Salmonella in domestic animals***. New York: CABI Publishing, 2000. cap. 2, p. 19-33.

SAEED, A. M. ***Salmonella enterica Serovar enteritidis in Humans and Animals: Epidemiology, Pathogenesis and Control***. Ames: Iowa State University Press, 1999.

SALLES, R. P. R.; TEIXEIRA, R. S. C.; SIQUEIRA, A. A.; SILVA, E. E.; CASTRO, S. B.; CARDOSO, W. M. Monitoramento bacteriológico para *Salmonella* spp. em poedeira comercial na recria e produção de empresas avícolas da região metropolitana de Fortaleza, CE, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 9, n. 2, p. 427-432, 2008.

SCHROEDER, C. M.; NAUGLE, A. L.; SCHLOSSER, W. D.; HOUGUE, A. T.; ANGULO, F. J.; ROSE, J. S.; EBEL, E. D.; DISNEY, W. T.; HOLT, K. G.; GOLDMAN, D. P. Estimate of illnesses from *Salmonella* Enteritidis in eggs, United States, 2000. **Journal Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 11, n. 1, p. 113-115, 2005.

SCUDERI, G.; FANTASIA, M.; FILETICI, E.; ANASTASIO, M.P. Foodborne outbreaks caused by *Salmonella* in Italy, 1991-1994. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, v. 116, n. 3, p. 257-265, 1996.

SELANDER, R. K.; LI, J.; NELSON, K. Evolutionary genetics of *Salmonella enterica*. In: NEIDHARDI, F. C.; CURTISS, R.; INGRAHAM, J. L.; LIN, E. C. C.; LOW, K. B.; MAGASANIK, B.; REZNIKOFF, W. S.; RILEY, M.; SCHAECHTER, M.; UMBARGER, H. E.; ***Escherichia coli and Salmonella – cellular and molecular biology***. Washington: American Society for Microbiology, 1996, v. 2, p. 2691-2707.

SHELOBOLINA, E. S.; SULLIVAN, S. A.; O'NEIL, K. R.; NEVIN, K. P.; LOVLEY, D. R. Isolation, characterization, and U (VI) – Reducing potential of a facultatively anaerobic, acid-resistant bacterium from low-pH, nitrate- and U(VI), contaminated subsurface

sediment and description of *Salmonella subterranea* sp. nov. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 70, n. 5, p. 2959-2965, 2004.

SMITH, H.W. The use of live vaccines in experimental *Salmonella* Gallinarum infection in chickens with observations on their interference effect. **Journal of Hygiene**, Cambridge, v. 54, n. 3, p. 419-432, 1956.

SNOW, L. C.; DAVIES, R. H.; CHRISTIANSEN, K. C.; CARRIQUE-MAS, J. J.; WALES, A. D.; O'CONNOR, J. L.; COOK, A. J. C.; EVANS, S. J. Survey of *Salmonella* prevalence on commercial layer farms in the United Kingdom. **Veterinary Record**, London, v. 161, n. 14, p. 471-476, 2007.

SNOW, L. C.; DAVIES, R. H.; CHRISTIANSEN, K. H.; CARRIQUE-MAS, J. J.; COOK, A. J. C.; TEALE, C. J.; EVANS, S. J. Survey of the prevalence of *Salmonella* on commercial broiler farms in the United Kingdom. **Veterinary Record**, London, v. 163, n. 22, p. 649-654, 2008.

SONCINI, R. A.; MORAES, M. A. Z.; COSTA, J. L. A. Transmissão horizontal de *Salmonella* Enteritidis em pintos de um dia de idade. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 2, p. 94, 2000.

SOJKA, W. J.; WRAY, C.; HUDSON, E. B.; BENSON, J. A. Incidence of *Salmonella* infection in animals in England and Wales. **Veterinary Record**, London, v. 96, p. 280-287, 1975.

SOUZA, E. **Pesquisa de agentes etiológicos patogênicos para galinhas de produção, em aves selvagens próximas às instalações avícolas**. 2007. 90f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária – Patologia Animal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.

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

ST LOUIS, M. E.; MORSE, D.L.; POTTER, M.E.; DeMELFI, T.M.; GUZEWICH, J.J.; TAUXE, R.V.; BLAKE, P. A. The *Salmonella* Enteritidis Working Group. The emergence of grade an eggs as a major source of *Salmonella* Enteritidis infections. **JAMA**, v. 259, n. 14, p. 2103-2107, 1988.

STELLMACHER, W. Infecções por salmonelas. In: BEER, J. **Doenças infecciosas em animais domésticos**. São Paulo: EDITORA ROCA, 1999, p. 65-92.

STERZO, E. V.; VARZONE, J. R. M.; FERRARI, R. Salmoneloses Aviárias. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 7, n. 2, p. 129-138, 2008.

STEVENS, A.; JOSEPH, C.; BRUCE, J.; FENTON, D.; O'MAHONY, M.; CUNNINGHAM, D.; O'CONNOR, B.; ROWE, B. A large outbreak of *Salmonella enteritidis* phage type 4 associated with eggs from overseas. **Epidemiology and Infection, Cambridge**, v. 103, p. 425-433, 1989.

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

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

TAYLOR, J. Bacterial rodenticides and infection with *Salmonella* enteritidis. **Lancet**, United Kingdom, v. 270, n. 5, p. 471-476, 1956.

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

TIMMS, L. M.; MARSHAL, R. H.; BRESLIN, M. F. Laboratory and field trial assessment of protection given by *Salmonella* Enteritidis PT4 inactivated, adjuvant vaccine. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 150, n. 1, p.93-102, 1994.

TOYOTA-HANATANI, Y.; EKAWA, T.; OHTA, H.; IGIMI, S.; HARA-KUDO, Y.; SASAI, K.; BABA, E. Public health assessment of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis inactivated-vaccine treatment in layer flocks. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.75, n. 4, p. 1005-1010, 2009.

UBA - União Brasileira de Avicultura. **Relatório anual 2008**. Disponível em: <<http://www.org.br>>. Acesso em: 23 set. 2009.

UZZAU, S.; BROWN, D. J., WALLIS, T.; RUBINO, S.; LEORI, G.; BERNARD, S.; CASEDESUS, J.; PLATT, D. J.; OLSEN, J. E. Host adapted serotypes of *Salmonella enterica*. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, v. 125, n. 2, p. 229-255, 2000.

VAN DE GIESSEN, A. W.; DUFRENNE, J. B.; RITMEESTER, W. S.; BERKERS, P. A. T. A.; VAN LEEUWEN, W.J.; NOTERMANS, S. H. W. The identification of *Salmonella* enteritidis infected poultry flocks associated with an outbreak of human salmonellosis. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, v. 109, n. 3, p. 405-411, 1992.

VAN DE GIESSEN, A. W.; PETERS, R.; BERKERS, P. A. T. A.; JANSEN, W. H.; NOTERMANS, S. H. W. *Salmonella* contamination of poultry flocks in the Netherlands. **Veterinary Quartely**, Dondrechet, v. 13, n. 1, p. 41-46, 1991.

VARNAM, A. H.; EVANS, M. G. *Salmonella*. In: VARNAM, A. H.; EVANS, M. G. **Foodborne pathogens an illustrated text**. London: MOSBY-YEAR BOOK, 1991. cap. 4, p. 51-85.

WALTMAN, W. D. M. Methods for the Cultural Isolation of *Salmonella*. In: WRAY, C.; WRAY, A. **Salmonella in domestic animals**. New York: CABI Publishing, 2000. cap. 21, p. 355-372.

WARD, L. R.; DE SA, J. D. H.; ROWE, B. A phage-typing scheme for *Salmonella enteritidis*. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, v. 99, n. 2, p. 291-294, 1987.

WOODWARD, M. J.; GETTINGBY, G.; BRESLIN, M. F.; CORKISH, J. D.; HOUGHTON, S. The efficacy 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.

WRAY, C.; DAVIES, R. H. **Guiderline on detection and monitoring of Salmonella infected poultry flocks with particular reference to Salmonella Enteritidis**. Graz: WHO, p. 8-17, 1994.

YOSHIMURA, H.; NAKAMURA, H.; SATO. S. Incidence of salmonellae in animal feed ingredients in Japan. **National Institute of Animal Health Quarterly**, Yatabe-machi, v. 19, n. 4, p. 107-113, 1979.

ZANCAN, F. T.; BERCHIERI JÚNIOR, A.; FERNANDES, S. A.; GAMA, N. M. S. Q. *Salmonella* sp investigation in transport boxes of day-old birds. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 31, n. 3, p. 230-232, 2000.

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