UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

INFECÇÃO EXPERIMENTAL EM FRANGOS DE CORTE COM SOROTIPOS DE *SALMONELLA* spp. ISOLADOS DE INSTALAÇÕES AVÍCOLAS E DA AVIFAUNA SELVAGEM

Eliane de Sousa
Médica Veterinária

JABOTICABAL - SÃO PAULO - BRASIL
2012

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

INFECÇÃO EXPERIMENTAL EM FRANGOS DE CORTE COM SOROTIPOS DE *SALMONELLA* spp. ISOLADOS DE INSTALAÇÕES AVÍCOLAS E DA AVIFAUNA SELVAGEM

Eliane de Sousa

Orientadora: Profa. Dra. Karin Werther

Co-Orientador: Prof. Dr. Ângelo Berchieri Junior

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutora em Medicina Veterinária (Patologia Animal).

JABOTICABAL - SÃO PAULO - BRASIL

Fevereiro de 2012

Sousa, Eliane de
S725i Infecção experimental em frangos de corte com sorotipos de *Salmonella* spp. isolados de instalações avícolas e da avifauna selvagem./ Eliane de Sousa. – – Jaboticabal, 2012.
ix, 96 f. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2012.
Orientadora: Karin Werther
Banca examinadora: Anna Monteiro Correia Lima Ribeiro, Ivens Gomes Guimarães, Marcelo Vasconcelos Meireles, Raphael Lúcio Andreatti Filho.
Bibliografia

1.*Salmonella*. 2. Frangos de corte. 3. Avifauna selvagem. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:616.981.49:636.5

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

ELIANE DE SOUSA - nascida em Uberaba-MG, em 23 de Junho de 1979. Graduou-se em Medicina Veterinária pela Universidade de Uberaba, em dezembro de 2002. Concluiu o Curso de Pós-graduação *Lato Sensu* em Ciências Aviárias pela Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), em janeiro de 2005. Conclui o mestrado no Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, área de concentração em Patologia Animal, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (FCAV-UNESP), Campus de Jaboticabal, em 2007. Ingressou no curso de doutorado no Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária (Patologia Animal), na FCAV-UNESP, em março de 2008. Foi professora do Centro Universitário Moura Lacerda (Ribeirão Preto-SP), ministrando aulas de ornitopatologia, avicultura e animais silvestres e de zoológico no curso de Medicina Veterinária, no período de outubro de 2006 a outubro de 2009. Foi professora substituto-bolsista da FCAV-UNESP, ministrando a disciplina Ecologia de enfermidades de animais selvagens no curso de Ciências Biológicas, no período de agosto a dezembro de 2008 e, a disciplina Doenças de animais silvestres no curso de Medicina Veterinária, no período de março a junho de 2009. Realizou estágio docência nos anos de 2010 e 2011, na disciplina de ornitopatologia da FCAV-UNESP. Bolsista FAPESP (doutorado) no período de dezembro de 2009 a fevereiro de 2012.

“Pela persistência e fé, respaldadas na sinceridade dos que crêem na perfectibilidade humana, não tardará que o impossível mude-se no difícil e este no possível, a depender tão só do que tenhamos no íntimo. Não importam e nem se contam os tropeços da caminhada, o importante é o caminhar, na perseguição consciente da meta a atingir-se, mesmo que custosa e por vezes aparentemente inatingível”.

(Walter Miguel)

“Sou um só, mas ainda assim sou um.

Não posso fazer tudo, mas posso

fazer alguma coisa.

E, por não poder fazer tudo,

não me recusarei a

fazer o pouco que posso.

O que eu faço,

é uma gota no meio de um oceano.

Mas sem ela, o oceano

será menor”.

(Madre Teresa de Calcutá)

OFEREÇO,

Aos meus pais

Haroldo Ângelo de Sousa e Edilma Botta de Sousa,
Pelo exemplo de dedicação, seriedade e honestidade que sempre
Representaram e pelo incentivo e confiança depositados em mim durante essa
Caminhada.

Á minha irmã Elaine, meu cunhado Ghassan
e meus sobrinhos Willian e Vinicius,
pelo apoio incondicional e amizade
ao longo destes anos.

DEDICO,

A Deus e Nossa Senhora,

Por me guiar em todos os momentos da minha vida.

Ao Thiago, meu grande amor e companheiro,

Por todo incentivo, apoio e principalmente compreensão

Nessa caminhada.

Aos meus animais de estimação, em especial à Brenda,

Pela companhia em todos

Os momentos.

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Karin Werther, minha orientadora, pelo exemplo de dedicação profissional, pela transmissão de inúmeros conhecimentos e pela amizade.

Ao Prof. Dr. Ângelo Berchieri Junior, por confiar em mim e na realização de um grande trabalho.

À Profa. Dra. Rosângela Zacarias Machado, pelo auxílio na execução deste trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa no Estado de São Paulo - FAPESP, pelo auxílio-pesquisa Processo n° 2007/58998-6 (2007-2010) e pela concessão de bolsa Processo n° 2009/53311-8 (2009-2012).

Ao Instituto Adolfo Lutz - SP, por realizar as tipificações da *Salmonella* spp., isoladas nessa pesquisa.

A propriedade avícola de Monte Alto que permitiu colher materiais em suas instalações.

Aos estagiários e residentes do setor de Silvestres e graduandos de medicina veterinária da UNESP-Jaboticabal, que colaboraram com capturas e manejo das aves selvagens.

Aos amigos do laboratório de Ornitopatologia, em especial: Adriana, Henrique, Jaqueline, Mariana, Rafael, Bruno, Bruna, Oliveiro, Janine que colaboraram na realização dos experimentos.

A Ana Carolina da Silva, aluna de iniciação científica e bolsista da FAPESP, pelo auxilio na colheita e processamento dos materiais utilizados nessa pesquisa.

A Francisca de Assis Ardisson (Chica) pela grande ajuda na confecção das lâminas histopatológicas.

Aos docentes e funcionários do Departamento de Patologia Veterinária, que de alguma forma contribuíram para a minha formação.

Aos colegas de pós-graduação: Cinthia, Aline, Juliana e José Roberto pela amizade e ajuda nas mais diversas etapas deste trabalho, e pelos anos de agradável convivência.

Às aves selvagens e pintinhos, que tiveram suas vidas solicitadas para este projeto.

SUMÁRIO

Página

1. INTRODUÇÃO 1
2. REVISÃO DE LITERATURA 3
   Etiologia 3
   Salmoneloses em aves..... 6
   Salmonella spp. em instalações avícolas..... 10
   Salmonella spp. em suínos..... 13
   Impacto econômico e saúde pública..... 13
   Diagnóstico 14
   Prevenção e controle 15
3. OBJETIVOS 18
4. MATERIAL E MÉTODOS 19
   4. 1. Instalação avícola 19
   4. 2. Animais e material biológico colhido 23
      4. 2. 1. Aves selvagens capturadas nas instalações avícolas..... 23
      4. 2. 2. Aves de produção 25
      4. 2. 3. Roedores 28
      4. 2. 4. Suínos 29
   4. 3. Técnicas laboratoriais 29
      4. 3. 1. Teste sorológico para pesquisa de anticorpo anti-*Salmonella* Pullorum (Teste de Pulorose) 29
      4. 3. 2. Cultura e isolamento para *Salmonella* spp. 30
      4. 3. 3. Exames histopatológicos 32
   4. 4. Infecção Experimental 33
      4. 4. 1. Preparação de sorotipos resistentes ao ácido nalidíxico (Nal^R).. 33
      4. 4. 2. Preparo das amostras 34
      4. 4. 3. Estudo da infecção em aves jovens 35
5. RESULTADOS 40
   5. 1. Aves selvagens 40

5. 1. 1. Espécies capturadas..... 40
5. 1. 2. Exame clínico 40
5. 1. 3. Teste para pesquisa de anticorpo anti-*Salmonella* Pullorum (teste de Pulorose) 41
5. 1. 4. Cultura e isolamento para *Salmonella* spp..... 41
5. 1. 5. Alterações macroscópicas 42
5. 1. 6. Alterações microscópicas 42
5. 2. Aves de produção 42
5. 3. Infecção experimental 44
5. 3. 1. Avaliação clínica dos pintinhos pós-infecção..... 44
5. 3. 2. Isolamento de *Salmonella* spp. 45
5. 3. 3. Alterações macroscópicas 48
5. 3. 4. Alterações microscópicas 51
6. DISCUSSÃO 53
7. CONCLUSÕES 61
REFERÊNCIAS 62

LISTA DE FIGURAS

Página

FIGURA 1: Vista externa do galpão avícola de frango de corte na propriedade localizada no município de Monte Alto-SP (Foto: arquivo pessoal)..... 19

FIGURA 2: Vista externa do galpão avícola de frango de corte da propriedade localizada próxima a Monte Alto-SP, onde estão duas corujas buraqueiras (*Speotyto cunicularia*) no telhado (Foto: arquivo pessoal)..... 20

FIGURA 3: Vista interna do galpão avícola da propriedade localizada próxima a Monte Alto-SP em situação de vazio sanitário, mostrando a cama aviária de casca de amendoim que será reutilizada em lote subsequente e com a presença de penas (Foto: arquivo pessoal). 20

FIGURA 4: Presença de aves selvagens no interior do galpão avícola de propriedade localizada próxima a Monte Alto-SP, em situação de vazio sanitário (Foto: arquivo pessoal)..... 21

FIGURA 5: Presença de anus-pretos (*Crotophaga ani*) no interior do galpão avícola de propriedade localizada próxima a Monte Alto-SP, em vazio sanitário (Foto: arquivo pessoal)..... 22

FIGURA 6: Presença de ave selvagem (*Columbina talpacoti*) no interior do galpão avícola de propriedade localizada próxima a Monte Alto-SP, logo após a chegada e alojamento dos pintinhos de um dia no galpão. As manchas claras na parte superior da foto são artefatos na lente da máquina em decorrência da alta umidade e temperatura do local (Foto: arquivo pessoal)..... 22

FIGURA 7: Rede comum colocada nas vegetações ao redor de galpão avícola em propriedade localizada próxima a Monte Alto-SP (Foto: arquivo pessoal)... 24

FIGURA 8: Chegada dos pintinhos à granja avícola da propriedade localizada próxima de Monte Alto-SP (Foto: Arquivo pessoal)..... 27

FIGURA 9: Colheita de suabes de caixas dos pintinhos, na chegada à granja avícola da propriedade localizada próxima de Monte Alto-SP (Foto: Arquivo pessoal)..... 27

FIGURA 10: Colheita de fezes de pintinhos no primeiro dia de alojamento na granja avícola da propriedade localizada próxima de Monte Alto-SP (Foto:

Arquivo pessoal)..... 28

FIGURA 11: Amostras de cascudinhos (*Alphitobius diaperinus*) na cama aviária usada na granja avícola da propriedade localizada próxima de Monte Alto-SP (Foto: Arquivo pessoal)..... 28

FIGURA 12: Amostras de fezes de roedores encontradas nos forros dos galpões da granja avícola (Foto: arquivo pessoal)..... 29

FIGURA 13: Reações da técnica de SAR: à esquerda positiva (formação de grumos) e à direita negativa (Foto: Arquivo pessoal)..... 30

FIGURA 14: Sequência dos meios para isolamento de *Salmonella* spp., (da esquerda para direita) caldo nutriente com amostra, caldos SN e RP. Laboratório de Ornitopatologia, UNESP-FCAV Jaboticabal (Foto: Arquivo pessoal)..... 31

FIGURA 15: Continuação da figura 14. Passagem das amostras em meio líquido SN e RP para as placas de MC, VB e XLT4. Laboratório de Ornitopatologia, UNESP-FCAV Jaboticabal (Foto: Arquivo pessoal)..... 31

FIGURA 16: Colônias sugestivas de *Salmonella* spp. em ágar XLT-4. Laboratório de Ornitopatologia, UNESP-FCAV Jaboticabal (Foto: Arquivo pessoal)..... 32

FIGURA 17: Reação do meio TSI (Triple Sugar Iron) - a esquerda e do meio LIA (Lisina Iron Agar) - a direita, sugestivo para *Salmonella* spp. Laboratório de Ornitopatologia, UNESP-FCAV Jaboticabal (Foto: Arquivo pessoal)..... 32

FIGURA 18: Placa de ágar VB subdividida em três campos, onde foram aplicadas 0,1mL (três gotas) da alíquota devidamente diluída por campo. Contagem da UFC por campo (Foto: Arquivo pessoal)..... 34

FIGURA 19: Vista externa das salas para a realização de infecção experimental, localizado no DPVe, anexo ao Laboratório de Ornitopatologia, UNESP-FCAV Jaboticabal (Foto: Arquivo pessoal)..... 35

FIGURA 20: Vista interna da sala de infecção, ressaltando o sistema de filtração e refrigeração de ar (controlador de ventilação), localizado no DPVe, anexo ao Laboratório de Ornitopatologia, UNESP-FCAV Jaboticabal (Foto: Arquivo pessoal)..... 36

FIGURA 21: Figura 21: Inoculação via oral, da cultura de *Salmonella*, com o auxílio de uma cânula esofágica (Foto: Arquivo pessoal)..... 37

FIGURA 22: Pintinhos da infecção experimental, mantidos em baterias metálicas com água e ração "*ad libitum*" (Foto: Arquivo pessoal)..... 37

FIGURA 23: Plaqueamento dos suabes de cloaca em ágar Verde Brilhante (Foto: Arquivo pessoal)..... 38

FIGURA 24: Colheita de suabe de fígado de frango experimentalmente infectado (Foto: Arquivo pessoal)..... 39

FIGURA 25: Presença de fezes amolecidas nas penas, ao redor da cloaca dos pintinhos infectados experimentalmente (quinto dpi) com *S.* Typhimurium. (Foto: Arquivo pessoal)..... 44

FIGURA 26: Realização de suabe de cloaca em pintinho no 1° dpi (Foto: Arquivo pessoal)..... 45

FIGURA 27: Necropsia, colheita de suabes e fragmentos de órgãos de frangos no 21° dpi. Laboratório de Ornitopatologia, UNESP-FCAV Jaboticabal (Foto: Arquivo pessoal)..... 45

FIGURA 28: Presença de petéquias/sufusões na musculatura peitoral de frango de corte infectado experimentalmente com *Salmonella* Glostrup (Foto: Arquivo pessoal)..... 48

FIGURA 29: Presença de manchas claras observadas no baço de frango de corte infectado experimentalmente (21° dpi) com *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorotipo 4,5,12:R:- (Foto: Arquivo pessoal)..... 49

FIGURA 30: Fotomicrografia de bolsa cloacal de pintinhos com 15 dias de idade, infectados com *S*. Tennessee, com granulócitos (seta). HE, obj. 10x (Foto: Arquivo pessoal)..... 51

FIGURA 31: Fotomicrografia de duodeno de pintinhos com 15 dias de idade, infectados com *S*. Typhimurium, com hiperplasia de enterócitos (seta preta) e células caliciformes (seta azul). HE, obj. 4x(Foto: Arquivo pessoal)..... 52

FIGURA 32: Fotomicrografia de fígado de pintinhos com 15 dias de idade, infectados com *S*. Typhimurium com degeneração lipídica (seta). HE, obj. 10x. (Foto: Arquivo pessoal)..... 52

LISTA DE TABELAS

Página

TABELA 1: Relação das ordens, espécies e número de aves capturadas na granja avícola da propriedade localizada próxima de Monte Alto-SP..... 41

TABELA 2: Sorotipos de *Salmonella* isolados em diferentes amostras colhidas na granja avícola da propriedade localizada próxima de Monte Alto-SP..... 43

TABELA 3: Freqüência dos diversos sorotipos de *Salmonella* spp. Nal^R isolados das aves infectadas experimentalmente nos 1º, 8º e 15º dpi em relação ao número total de suabes cloacais realizados..... 46

TABELA 4: Relação do número de suabes positivos/colhidos no fígado, baço e conteúdo cecal das aves ao 15° e 21° dpi, com diferentes sorotipos de *Salmonella*..... 47

TABELA 5: Descrição dos achados macroscópicos e sua ocorrência observada nos 135 animais experimentalmente infectados com os diferentes sorotipos de *Salmonella.* e abatidos aos 15 e 21 dpi 50

ABREVIATURAS

BPA: Boas Práticas Agrícolas
CDC: Centers for Disease Control and Prevention
ELISA: Enzyme Linked Immunosorgent Assay
LB: Luria Bertani
LIA: Lisina Iron Agar
OIE: Organização Internacional de Epizootias
PNSA: Programa Nacional de Sanidade Avícola
SAR: Soroaglutinação Rápida em placa
SE: *Salmonella* Enteritidis
SG: *Salmonella* Gallinarum
SP: *Salmonella* Pullorum
SPF: livres de patógenos específicos
ST: *Salmonella* Typhimurium
TSI: Triple Sugar Iron

LISTA DE SÍMBOLOS

%: porcentagem
°C: graus Celsius
®: marca registrada

INFECÇÃO EXPERIMENTAL EM FRANGOS DE CORTE COM SOROTIPOS DE *SALMONELLA* spp. ISOLADOS DE INSTALAÇÕES AVÍCOLAS E DA AVIFAUNA SELVAGEM

RESUMO – Para a manutenção da avicultura brasileira e conservação dos seus altos índices de produção e exportação de produtos avícolas, são exigidas medidas de prevenção e controle de alguns agentes etiológicos nas granjas, como por exemplo, a *Salmonella* spp. O objetivo deste trabalho foi isolar e classificar *Salmonella* spp., em materiais colhidos de instalações avícolas, sunícolas e avifauna selvagem local, inocular posteriormente os sorotipos isolados em pintos de frangos de corte verificando sua patogenicidade.. Foram capturadas 36 aves selvagens de diferentes espécies nas instalações avícolas de uma granja integrada de frango de corte. Foi isolado *Salmonella* Heidelberg dos órgãos e conteúdo intestinal de um pica-pau-do-campo (*Colaptes campestris*),. As amostras positivas provenientes das aves de produção foram: cama aviária (*Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorotipo 4,5,12:R:-; *Salmonella* Heidelberg; *Salmonella* Infantis), fezes de frangos de corte (*Salmonella* Heidelberg; *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorotipo 6,7:R:-; *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorotipo 4,5,12:R:-; *Salmonella* Tennessee); água (*Salmonella* Glostrup; *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorotipo 6,8:d:-;) e cascudinhos (*Alphitobius diaperinus*) encontrados na cama aviária (*Salmonella* Tennessee). Em fezes de suínos criados em galpões na mesma propriedade, foram isolados *Salmonella* Panama e *Salmonella* Typhimurium. Quanto à infecção experimental, em todos os nove grupos de aves foi observado entre o 3° dpi (dia pós-infecção) e o 12° dpi, fezes amolecidas no chão das gaiolas, ao redor da cloaca e na penugem das aves. Aos 15 e 21 dpi, os diferentes sorotipos de *Salmonella* foram isolados do conteúdo cecal, do baço e do fígado. Nas necropsias não foram encontradas alterações macro nem microscópicas relevantes.

Palavras-chave: Infecções por *Salmonella*, doenças das aves, aves domésticas, bacteriologia.

EXPERIMENTAL INFECTION IN BROILER WITH SEROTYPES OF SALMONELLA SPP. ISOLATED OF POULTRY HOUSES AND WILD BIRDS

SUMMARY- For maintenance of the high levels of production in Brazil and the export of poultry products, preventive measures and control of some etiologic agents on farms, such as *Salmonella* spp., are required. The purpose of the present study was to initially investigate the presence of *Salmonella* spp.through bacterial culture in poultry houses materials collected from local poultry and wild birds and subsequently inoculate the isolated serotypes in broiler chicks and verify the effect on these. From the 36 wild birds captured in the poultry houses, *Salmonella* Heidelberg were isolated from the organs and intestinal contents from one woodpecker (*Colaptes campestris*) From the poultry houses the positive samples were: litter (*Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorotipo 4,5,12:R:-; *Salmonella* Heidelberg; *Salmonella* Infantis), feces of broiler (*Salmonella* Heidelberg; *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorotipo 6,7:R:-; *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorotipo 4,5,12:R:-; *Salmonella* Tennessee), water (*Salmonella* Glostrup; *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorotipo 6,8:d:-;) and lesser mealworm (*Alphitobius diaperinus*) found in litter (*Salmonella* Tennessee). From the feces of swine also produced in sheds on the same farm were isolated *Salmonella* Typhimurium and *Salmonella* Panama. In the experimental infection done in nine avian groups (n=15) was observed between the 3rd dpi (days post-infection) and 12th dpi the presence of soft feces on the floor of the cages, around the cloaca and on feathers of the birds. On 15 and 21 dpi the different serotypes of *Salmonella* were isolated from the cecal contents, spleen and liver. At the necropsies weren't observed relevant macro or microscopic alterations.

Keywords: *Salmonella* infectious, bird diseases, poultry, bacteriology.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é considerado atualmente o maior exportador de carne de frango do mundo (UBA, 2011), ocupa a segunda posição do *ranking* mundial na produção dessa carne e a quinta posição em produção de ovos (FAO, 2010).

Para a manutenção da avicultura brasileira e conservação dos seus altos índices de produção e exportação de produtos avícolas, são exigidas medidas de prevenção e controle de alguns agentes de enfermidades infecciosas em aves comerciais como, por exemplo, *Salmonella* spp.

A incidência de infecção alimentar por salmonelas em humanos vem aumentando em várias partes do mundo, apesar de todo o desenvolvimento tecnológico na produção de alimentos e da adoção de melhores medidas higiênicas e sanitárias. Os alimentos de origem animal, dentre eles, a carne de aves, ovos e seus derivados são os principais responsáveis pela infecção humana (GAST et al., 2008).

As aves de criação comercial infectam-se com *Salmonella* spp. geralmente, pela transmissão vertical ou, no seu próprio ambiente de criação via água, ração e cama contaminadas. Também podem se infectar com os excrementos de roedores ou outros animais que albergam o agente. A ave infectada poderá ser portadora assintomática ou apresentar queda de produção, redução da conversão alimentar e morte. Muitos dos sorotipos do gênero *Salmonella* podem sobreviver por semanas ou meses no esterco e na cama de frangos, nas excretas de aves silvestres, nos equipamentos, em galpões vazios e no solo dos seus arredores, nas partículas de poeira, nos comedouros e na ração, aumentando e sustentando índices de infecção cada vez maiores nos planteis avícolas (ÁVILA et al., 1972; BARROW, 1993; BERCHIERI JUNIOR et al., 1993).

Em todo o mundo são gastos milhões de dólares na prevenção e controle de *Salmonella* spp. O exemplo é da Dinamarca que investiu US$ 14 milhões (2001) em programas de prevenção desse agente em aves (US$ 0,026 por Kg) e economizou US$ 25,5 milhões ao ano, gastos com salmonelose em humanos (NASCIMENTO, 2010). Como o Brasil produz 10,5 bilhões de Kg de frango por

ano, teria que investir US$ 270 milhões por ano para realizar os mesmos procedimentos dinamarqueses.

O presente trabalho objetivou pesquisar e classificar *Salmonella* spp. em uma criação de frango de corte, onde também havia baias de suínos, e em aves selvagens que freqüentam as instalações avícolas, além de verificar o efeito da infecção experimental dos sorotipos isolados, em pintos de um dia.

2. REVISÃO DE LITERATURA

ETIOLOGIA

No final do século19, foram identificadas as primeiras bactérias do gênero *Salmonella.* A *Bacterium typhosa* foi a primeira a ser reconhecida como patógeno, por Eberth, em 1880, isolada de baço e linfonodo de seres humanos. A descrição morfológica desta bactéria foi feita em 1884 por Gaffky (CORREA & CORREA, 1992; BARROW, 1993).

O nome genérico *Salmonella* foi proposto por Lignières, em 1900, em homenagem a D. E. Salmon (MERCHANT & PACKER, 1980).

No início do século 20, a caracterização das bactérias do gênero *Salmonella* ainda era pouco elucidada. A partir de 1925, começou a ficar mais clara, devido à utilização de provas sorológicas. Posteriormente, foram descritos aproximadamente 900 sorotipos de *Salmonella,* classificados pela terminologia de White (1929), que deu origem ao esquema de Kauffmann White, o qual foi reconhecido a partir de 1932 (CORREA & CORREA, 1992).

Os microrganismos do gênero *Salmonella* pertencem à família Enterobacteriaceae e são bacilos curtos de 0,7 a 1,5 x 2,5 μm, Gram-negativos, não esporulados. Em sua grande maioria, são móveis com flagelos peritríquios, embora alguns sorotipos, como *S*. Pullorum (SP) e *S*. Gallinarum (SG), sejam imóveis. A temperatura de incubação está entre 5 e 45°C, sendo ideal a 37°C, e o pH entre 4 e 9, sendo ideal em torno de 7. *Salmonella* spp. se multiplica em meio de cultura para enterobactérias, tais como o ágar verde brilhante e ágar de MacConkey. As salmonelas mantêm-se viáveis por longos períodos em meios que contenham peptona (GAST et al., 2008).

Quanto aos aspectos bioquímicos, as bactérias do gênero *Salmonella* spp. são aeróbias ou anaeróbias facultativas, possuem habilidade para metabolizar nutrientes, catabolizando D-glicose ou outros carboidratos, com exceção de lactose e sacarose, com produção de ácido e gás. São catalase positiva e oxidase negativa como todos os membros da sua família. Não fermentam malonato, não

hidrolisam a uréia, não produzem indol, utilizam citrato como fonte de carbono, reduz em nitrato a nitrito e podem produzir ácido sulfídrico (GAST et al., 2008).

A nomenclatura atual do gênero *Salmonella* spp. segue o esquema proposto por POPOFF et al. (1996), no qual o gênero apresenta duas espécies: *Salmonella enterica* com seis subespécies (*enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica*) e *Salmonella bongori*. Assim, a designação de *Salmonella* "Typhimurium*"* passaria a ser *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorotipo (ou sorovar) Typhimurium, ou de forma simplificada, *Salmonella* Typhimurium.

São descritos mais de 2.500 sorotipos de *Salmonella.* O esquema Kauffmann White utilizado para classificação antigênica do gênero *Salmonella* é baseado em antígenos somáticos (O) e flagelares (F). Os antígenos O são polissacarídeos termoestáveis localizados na superfície da parede celular bacteriana e são identificados por números arábicos, enquanto que os antígenos F são constituídos por proteínas termolábeis e, algumas vezes, o sorotipo pode produzi-las em duas diferentes fases, sendo que a combinação dos antígenos O e F determina o sorotipo (GAST et al., 2008).

Salmonella enterica, espécie que alberga a grande maioria dos sorotipos do gênero frequentemente detectados recebe nomes muitas vezes relacionados com a espécie ou a região geográfica em que foram encontradas (BERCHIERI JUNIOR & FREITAS NETO, 2009).

De acordo com BERCHIERI JUNIOR & FREITAS NETO (2009), cerca de 80 a 90 sorotipos de *Salmonella* são os mais comuns em casos de infecção nos animais e em seres humanos. Nas galinhas, podem causar três enfermidades distintas: a pulorose, cujo agente é a *Salmonella* Pullorum (SP); o tifo aviário, causado pela *Salmonella* Gallinarum (SG); e o paratifo aviário, causado pela *Salmonella* Typhimurium (ST) e *Salmonella* Enteritidis (SE), entre outras. Em humanos, a ingestão de alimentos de origem avícola contaminados com *Salmonella* spp. pode causar infecção alimentar.

Alguns sorotipos são mais restritos ao trato intestinal, enquanto outros são capazes de invadir a corrente circulatória, podendo desencadear septicemia. A

patogenia e gravidade das lesões dependem, entre outros fatores, da adaptação do agente com o hospedeiro e dos sorotipos adaptados a vários hospedeiros. Por exemplo, *S***.** Enteritidis em aves e mamíferos causa gastroenterite, que dependendo da susceptibilidade do organismo infectado pode resultar em uma infecção sistêmica. Já a doença causada por sorotipos adaptados a um número restrito de hospedeiros, como *S*. Gallinarum e *S*. Pullorum em galinhas, manifesta-se com severas lesões sistêmicas, na maioria dos casos, levando o hospedeiro à morte (BERCHIERI JUNIOR & BARROW, 1995; VAN IMMERSEEL et al., 2005).

A resistência dos microrganismos do gênero *Salmonella* spp. no meio ambiente, assim como a existência de animais portadores aumenta a distribuição dessas bactérias mundialmente (MACIOROWSKI et al., 2004). A facilidade que as salmonelas possuem de infectar diversos seres (animais e humanos) favorece a disseminação e, conseqüentemente, a elevação do número de casos da enfermidade (KOPANIC et al., 1994; LIEBANA et al., 2003).

As salmonelas são susceptíveis à destruição quando submetidas a 55ºC, por 1 hora, ou a 60ºC, durante 15 a 20 minutos, portanto, o processo de peletização pelo calor, consegue eliminar esse agente da ração, ressaltando-se também que a solução de cloreto de sódio (NaCl) a 3-4% inibe a multiplicação da bactéria (GAST et al., 2008).

A irradiação tem recebido considerável atenção como um método para controlar salmonelas em carne de frango, ovos e ração e outros agentes físicos, tais como, estímulos elétricos, radiação ultravioleta têm sido considerados letais para esta bactéria. Uma grande variedade de desinfetantes químicos é eficaz no controle de *Salmonella*, sendo que peróxido de hidrogênio, ácido acético, ácido lático e cloro reduzem o nível de *Salmonella* em carcaças de frango. Formaldeído, peróxido de hidrogênio e polihexametileno biguamida controlam *Salmonella* nas incubadoras. Produtos à base de fenóis, amônia quaternária, glutaraldeído, iodo e formol são indicados para a desinfecção de instalações contaminadas por *Salmonella* (GAST et al., 2008).

SALMONELOSES EM AVES

Salmonella Pullorum e *S.* Gallinarum determinam doenças clínicas características que podem levar à grandes perdas nos plantéis avícolas. Estes dois sorotipos encontram-se sob estrito controle na maioria dos países de avicultura desenvolvida, mas ainda provocam prejuízos em alguns países onde as medidas de controle não são executadas. Os outros sorotipos, entretanto, estão presentes e ocorrem em todos os tipos de criação de aves em todo o mundo (SILVA, 1997).

A pulorose é uma doença infecciosa que atinge especialmente pintinhos e peruzinhos, sendo freqüentemente caracterizada por diarréia esbranquiçada e alta mortalidade em aves jovens. No caso de sobrevida as aves adultas serão portadoras assintomáticas. A transmissão ocorre principalmente por via transovariana, embora seja admitida a penetração pela casca do ovo, mas em menor intensidade. A forma de transmissão via horizontal, geralmente ocorre entre os pintinhos no nascedouro, pelos sistemas digestivo e respiratório (BERCHIERI JUNIOR & FREITAS NETO, 2009).

Salmonella Gallinarum, responsável pelo tifo aviário, causa doença sistêmica em aves domésticas, com curso agudo ou crônico e mortalidade moderada ou alta. Ocorre com maior freqüência em aves adultas, mas tem sido também relatada em aves jovens e pintinhos. As aves portadoras são os mais importantes agentes disseminadores e perpetuadores da infecção, sendo comum o contágio de aves infectadas para suscetíveis. A transmissão pelo ovo é possível, embora tenha menor importância (NASCIMENTO et al., 1997).

As salmonelas paratíficas podem causar doença clínica e comprometer a produção avícola com perdas econômicas (BARROW, 1993), mas podem também infectar as aves sem que ocorra manifestação de sintomas ou lesões aparentes, acarretando a presença de aves portadoras que possuem importante significado para saúde pública. Essas salmonelas, ao serem introduzidas nas granjas por meio da ração ou pela via vertical, trazem conseqüências desastrosas para a

avicultura industrial, pois as fezes das aves infectadas podem contaminar o meio ambiente e infectar outras aves e seus subprodutos (GAST et al., 2008).

Segundo DAVIES & WRAY (1996), muitos dos sorotipos do gênero *Salmonella* podem sobreviver por semanas ou meses na cama de aves, nas excretas de aves silvestres, nos equipamentos, em galpões vazios e no solo dos seus arredores, nas partículas de poeira e nos comedouros. As *s*almonelas podem permanecer viáveis no material fecal por longo período (anos), particularmente, em fezes secas, podendo resistir mais de 28 meses nas fezes de aves, 30 meses em fezes de bovinos, 280 dias no solo cultivado e 120 dias na pastagem, sendo ainda encontrada em efluentes de água de esgoto, como resultado de contaminação fecal (RODRIGUES, 2005).

Todos os segmentos da produção de aves comerciais, tais como, granjas de reprodutoras, incubatórios, granjas comerciais, fábricas de ração, abatedouros, transportes e pontos de comercialização, podem ser contaminados pelas salmonelas por meio de diversas vias (BAILEY, 1994).

Muitos sorotipos de *Salmonella* spp. já foram isolados de aves com ou sem apresentação de quadro clínico do paratifo aviário. O mais comum é *S.* Typhimurium, mas outros, entre eles *S.* Enteritidis, *S*. Agona, *S.* Infantis, *S.* Hadar, *S*. Senftenberg e *S*. Heidelberg foram identificados como agentes etiológicos do paratifo aviário (BERCHIERI JUNIOR & FREITAS NETO, 2009).

POPPE (1999) observou que *S*. Enteritidis, *S*. Typhimurium e *S*. Heidelberg são os principais sorotipos de *Salmonella* causadoras do paratifo aviário. Estes sorotipos podem ocasionalmente infectar os ovários, oviduto e ovos.

Salmonella Enteritidis pode ser transmitida verticalmente para a progênie de lotes de matrizes infectadas e horizontalmente entre lotes, sendo que a infecção em aves reprodutoras não leva os efeitos significantes no que tange a fertilidade, eclodibilidade e produção de ovos (LISTER, 1988; DAVIES et al., 1997).

GAST & BEARD (1989) inocularam *S*. Typhimurium oralmente em pintinhos com idade de 1 a 8 dias e observaram que a mortalidade decrescia à medida que a idade das aves aumentava. Observaram também que ocorria uma persistência de *S*. Typhimurium no ceco das aves inoculadas nas diferentes idades até sete

semanas após a inoculação, evidenciando que a *Salmonella* consegue permanecer no trato entérico, transformando essas aves em portadoras e possíveis fontes de infecção alimentar para seres humanos.

Vários outros fatores podem facilitar a disseminação e transmissão horizontal de *Salmonella* spp. em uma granja de frango de corte. NAKAMURA et al. (1997) citam que o fluxo do ar influenciou a transmissão horizontal de *S*. Enteritidis, sendo mais rápida em condições onde o fluxo de ar foi menor. GAST & HOLT (1998) verificaram a transmissão horizontal de *S*. Enteritidis através do ar e observaram que o isolamento de *Salmonella* foi maior nas penas das aves (77 %) do que nos órgãos (33 %).

Aves de vida livre podem ser reservatório com ou sem sintomas e representarem um risco para as aves comerciais (HUBÁLEK, 2004). As aves migratórias têm um papel importante na epidemiologia de salmoneloses em animais domésticos e seres humanos.

Vários autores relataram a ocorrência mundial de diversos sorotipos de *Salmonella* spp. em aves de várias espécies, entre eles:

- *Salmonella* Pullorum em cacatua de palma preta (*Probosciger aterrimus*) (LIOW, 1978);
- *Salmonella* Typhimurium em: “bullfinch” (*Pyrrhula pyrrhula*), “eurasian siskin” (*Carduelis spinus*), “common redpoll” (*Carduelis flammea*) e “eurasian greenfinch” (*Carduelis chloris*) (REFSUM et al., 2003), em lorikeets e lories (WARD et al., 2003), codornas (*Colinus virginianus*) (HELM et al., 1999), pombos (*Columba livia*) (KIMPE et al., 2002; SOUSA et al., 2010a), araras (*Ara ararauna*) (VIGO et al., 2009);
- *Salmonella* Typhimurium variantes Copenhagen e Hadar em codornas (*Coturnix coturnix japonica*) (SANDER et al., 2001);
- *Salmonella arizonae* em cacatua de penacho amarelo claro (*Cacatua galerita galerita*) (ORÓS et al., 1998);
- *Salmonella* spp. em abetarda (*Chlamydotis undulata*) (D’ALOIA et al., 1996);

- *Salmonella* Kottbus em patos e marrecos de um dia de idade (GALLETTI et al., 1999);
- *S.* Havana, *S.* Virchow, *S.* Livingstone, *S.* Hadar, *S.* Paratyphi B e *Salmonella* spp. em coruja orelhuda (*Bubo bubo*), falcões peregrinos (*Falco peregrinus*), águia dourada (*Aquila chrysaetos*), e gaviões (*Buteo buteo*) (BATTISTI et al., 1998);
- *S.* Enteritidis em papagaio (*Amazona aestiva*) (MARIETTO-GONÇALVES et al., 2010).

No zoológico infantil (local onde crianças têm contato com animais) de Nagano (Japão), 11 aves domésticas, entre elas, quatro gansos da China (*Anser cygnoide*), um ganso de Toulouse (*Anser anser*), três patos (*Anas platyrhynchos*) e três perus (*Meleagris gallopavo*) foram positivos quanto ao isolamento de *Salmonella* Typhimurium (SATO et al., 1999).

GOPEE et al. (2000) analisaram 435 amostras de soros de aves, dentre os quais 7% (2/30) em Ramphastidae (*Ramphastos vitellinus*), 6% (6/106) em aves aquáticas, 6% (3/53) em aves de rapina e a freqüência de menos de 1% (1/140) em psitacídeos (*Pionus menstrus*), mostrando que 12 (3%) dos soros analisados foram positivos para a presença de anticorpo anti-*Salmonella* spp.

No Brasil, no zoológico do Rio de Janeiro, FREITAS et al. (1977) isolaram *S*. Typhimurium das fezes de garça-branca-grande (*Casmerodius alba*) e da água do lago. Anos mais tarde no mesmo zoológico LEMOS et al. (1999) analisaram 78 suabes de cloaca de 21 espécies de aves, obtendo resultados negativos para *Salmonella* em todas as amostras analisadas.

HOFER et al. (1997) isolaram diversos sorotipos de *Salmonella* de aves (frangos, perus, patos, marrecos, codornas, pombos e pássaros silvestres) provenientes de diversas regiões do país durante o período de 1962 a 1991, dentre eles: Typhimurium, Heidelberg, Infantis, Tennessee, Panama.

Durante o controle sanitário realizado pelo LANAGRO (Laboratório Nacional Agropecuário) em Campinas-SP, no desembarque de filhotes de avestruzes (*Struthio camelus*) importados, foram isolados vários sorotipos de *Salmonella*, entre eles, *S.* Newport (35,48%), *S.* Mbandaka (19,35%), *S.* Saintpaul (6,45%), *S.*

Panama (6,45%), *S.* Typhimurium (6,45%) e *S.* Enteritidis (6,45%) (RIBEIRO & ORSI 2002).

Em pombos domésticos capturados no município de Jaboticabal-SP foi isolado *Salmonella* spp. de órgãos (pulmão, gônadas e fígado/baço) e conteúdo intestinal em 10 (7,94%) de 126 pombos estudados. Dos 10 pombos positivos para *Salmonella* spp., em sete o agente foi isolado de apenas um órgão e, em três aves o isolamento ocorreu em mais de um órgão, concomitantemente. A tipificação realizada pelo Instituto Adolfo Lutz - SP revelou oito isolamentos pertencentes ao sorotipo *S.* Typhimurium, um sorotipo *S. enterica* subsp. *enterica* 4, 12 e um *S*. *enterica* subsp. *enterica* 4, 12, i (SOUSA et al., 2010a). TORO et al. (1999) isolaram *Salmonella* spp. pertencente aos sorogrupos B e D em 3% dos pombos analisados na cidade de Santiago no Chile.

Em uma pesquisa realizada com aves selvagens capturadas próximas às instalações avícolas, SOUSA et al*.* (2010b) isolaram *Salmonella* Enteritidis do conteúdo intestinal de uma pomba (*Zenaida auriculata*), *Salmonella* Muenchen de órgãos e *Salmonella* Saintpaul do conteúdo intestinal de uma seriema (*Cariama cristata*) e *Salmonella* Muenchen da cultura de suabe de cloaca de uma curicaca (*Theristicus caudatus*).

SALMONELLA spp. EM INSTALAÇÕES AVÍCOLAS

Em diversos trabalhos na literatura, são descritos resultados referentes à pesquisa desses agentes nas instalações avícolas, tanto no ambiente interno do galpão onde as aves têm contato direto, como em equipamentos e materiais sem contato com as aves.

BERCHIERI JUNIOR et al*.* (1989) isolaram 22 sorotipos de *Salmonella* em cama de aves e fezes de rato. Em um estudo realizado em granjas de postura comercial no Estado de New York (EUA) foi isolado *Salmonella* Enteritidis (SE) em aves, esterco armazenado, roedores e amostras do meio ambiente (MUTALIB et al., 1992). A ocorrência de *Salmonella* em instalações avícolas depende da introdução inicial do agente como a ingestão de rações contaminadas e a

existência de ciclo de transmissão no qual a água, o solo, a poeira e o ar, bem como insetos, roedores, pássaros e o homem, apresentam importância na cadeia epidemiológica do agente (KAMPELMACHER, 1987).

O sistema de criação intensivo adotado em avicultura industrial (alta densidade das aves, vazio sanitário inadequado, reaproveitamento da cama aviária e o acúmulo de fezes) favorece a permanência e disseminação da *Salmonella* spp. nas aves e no ambiente. GAMA et al. (2003) relataram o isolamento de *S.* Enteritidis, *S. enterica* cepa Rugosa, *S.* Javiana e *S.* Mbandaka das amostras de fezes de galinhas. Os dois primeiros sorotipos também foram isolados dos ovos provenientes dessas mesmas aves.

A introdução da *Salmonella* nas instalações avícolas pode ocorrer pela chegada de pintinhos infectados, comprovado pelo isolamento do agente das caixas de transporte, tendo sido observado em 77,13% dos lotes de aves reprodutoras e 44,45% dos lotes de aves de postura comercial. Os sorotipos isolados nessa pesquisa foram, entre outros: *Salmonella* Heidelberg, *Salmonella* Mbandaka, *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Cerro (ZANCAN et al., 2000). Em outro trabalho, ROCHA et al. (2003) isolaram de 378 amostras de 18 lotes de aves pertencentes a três empresas integradoras de frangos de corte do Estado de Goiás, *S.* Enteritidis (92,3%) de forro da caixa de transporte e de órgãos de pintos de um dia e *S*. Heidelberg somente de forro da caixa de transporte.

A cama de frango também pode representar um importante meio de transmissão da *Salmonella* spp.*,* como mostrou um trabalho no Canadá, onde foram avaliadas amostras de cama de 15 lotes de frangos de corte. As amostras foram colhidas antes do alojamento dos pintinhos, após cinco dias e após 42 dias de criação, verificando uma porcentagem crescente de positividade de 17,1%, 22,8% e 24%, respectivamente. Os sorotipos isolados foram: *S*. Infantis, *S*. Bredeney, *S*. Havana, *S.* Johannesburg, *S.* Montevideo e *S.* Drypool (BHATIA et al., 1979).

FROYMAN et al*.* (1997) isolaram *Salmonella* spp. de 25 (31,64%) aviários de frangos de corte pesquisados, utilizando suabes de arrasto. Os sorotipos

encontrados foram: *S*. Senftenberg, *S.* Infantis, *S.* Virchow, *S*. Bredeney, *S*. Indiana, *S*. Enteritidis e *S*. Typhimurium.

A ração e/ou a matéria-prima contaminada podem representar uma via de transmissão do agente para dentro da granja (BERCHIERI JUNIOR et al., 1993), podendo chegar a níveis de 96,7% de positividade (BERCHIERI JUNIOR & BARROW, 1995). GIRÃO et al. (1985) ao examinarem 94 amostras de matérias-primas e rações para aves provenientes de sete estados brasileiros, encontraram um total de 14,90% de amostras positivas. Foram encontrados os sorotipos *S*. Anatum, *S.* Infantis, *S*. Senftenberg, *S*. Dublin, *S.* Gallinarum, *S*. Saintpaul, *S*. 3,10:-:1,7 e *S*. 6,7:-.

BERCHIERI JUNIOR et al. (1984) isolaram *Salmonella* spp. em amostras de farinha de carne, pena e farinha de pena/vísceras, oriundas de três diferentes fábricas de ração do estado de São Paulo. Entre as diversas matérias-primas utilizadas na composição da ração para aves na avicultura, a farinha de carne foi freqüentemente considerada a principal fonte de contaminação de *Salmonella* spp. (BERCHIERI JUNIOR et al., 1989; ANDREATTI FILHO et al., 2001).

HOFER et al. (1998) num estudo de 12 anos isolaram de matérias-primas e rações para aves um total de 151 sorotipos de *Salmonella*, dentre os quais os mais freqüentes foram: *S.* Montevideo, *S*. Senftenberg, *S.* Havana, *S.* Mbandaka, *S.* Tennessee, *S.* Infantis, *S*. Agona, *S*. Cerro, *S*. Bredeney e *S.* Anatum. Esse último sorotipo também foi isolado por ANDREATTI FILHO et al. (2001) de farinha de carne utilizada para preparação de ração de aves.

Os programas de monitoramento de *Salmonella* spp. em granjas avícolas devem incluir roedores e suas excreções (HENZLER & OPITZ, 1992), uma vez que eles podem ser portadores desse agente, representando importante fonte de infecção (HILTON et al., 2002). A eliminação do agente pelas fezes pode ocorrer por um período superior a 10 meses. Uma cíbala (uma unidade de fezes de roedor) pode conter $2,3x10^5$ colônias de *Salmonella* Enteritidis, dose suficiente para infectar uma galinha adulta (HENZLER & OPITZ, 1992).

Além das fezes de roedores, também foi isolada *Salmonella* spp. do intestino e fígado desses animais (DAVIES & WRAY, 1996). Numa granja de

postura foi isolado *Salmonella* Enteritidis (SE) tanto dos ovos como do baço de ratos encontrados nos galpões, sugerindo uma correlação entre o agente e os hospedeiros (GUARD-PETTER et al*.,*1997)

SALMONELLA spp. EM SUÍNOS

Suínos são frequentemente infectados com *Salmonella* spp. sem apresentar qualquer sintoma da doença (SWANENBURG et al., 2001), sendo importantes na cadeia epidemiológica como portadores para outros animais e humanos. Estas bactérias têm uma alta capacidade de multiplicação no trato gastrointestinal destes animais. Contaminações da carcaça com as vísceras durante a linha de abate, transporte e comercialização podem representar importantes riscos à saúde humana (MICHAEL et al., 2002).

Pesquisas realizadas na região sul do Brasil verificaram uma porcentagem de isolamento de *Salmonella* spp. de 50,4% (MICHAEL et al., 2002) em outro trabalho variando de 62,5% a 85% (SCHWARZ et al., 2009). A presença de *Salmonella* spp. em suínos e na ração consumida pelos mesmos mostrou uma possível transmissão via alimento nesse caso (MICHAEL et al., 2002).

Os sorotipos mais prevalentes foram Panama (SCHWARZ et al., 2009), Heidelberg e Tennessee, *(*MICHAEL et al., 2002), Agona, (WEISS et al., 2002; SCHWARZ et al., 2009), Typhimurium (MICHAEL et al., 2002; WEISS et al. 2002; SCHWARZ et al., 2009) e Infantis *(*MICHAEL et al., 2002; WEISS et al. 2002).

Esses últimos três sorotipos também têm sido descritos em casos de salmoneloses humanas (TAUNAY et al., 1996) sugerindo que os suínos são animais muito importantes na transmissão desse agente para os humanos.

IMPACTO ECONÔMICO E SAÚDE PÚBLICA

Para a indústria avícola mundial, a pulorose e o tifo aviário representam grandes prejuízos à avicultura. A *Salmonella* Enteritidis e a *Salmonella* Typhimurium, causadores do paratifo aviário, provocam importantes perdas

econômicas, tanto para a indústria avícola, como para a saúde pública (GAMA et al., 2003; GAST et al., 2008). A salmonelose é considerada uma grave zoonose e os alimentos de origem animal, notavelmente os de origem avícola, têm sido associados com infecções alimentares em humanos.

Em decorrência da perda econômica que esta doença causa na avicultura e por impedir a exportação de produtos avícolas brasileiros, o Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA) contempla os quatro sorotipos de *Salmonella* (SP, SG, SE, ST), visando o controle dessa enfermidade em plantéis brasileiros (BRASIL, 2004).

Dentre os 2.500 sorotipos de *Salmonella* spp., a *Salmonella* Enteritidis foi o agente causador mais comum de infecções alimentares em seres humanos e também um dos principais sorotipos isolados de aves durante 10 anos (FERNANDES et al., 2006).

O Centro de Controle de Doenças (CDC) dos Estados Unidos registrou, no ano de 2010, 8.256 casos de salmonelose humana com 2.290 hospitalizações e 29 óbitos (CDC, 2012).

DIAGNÓSTICO

A técnica de Soroaglutinação Rápida em Placa (SAR) é um método rápido no diagnóstico de anticorpo anti-*Salmonella* Pullorum (BACK, 2004), podendo também ser realizada a técnica ELISA (OLIVEIRA et al., 2006). São técnicas que detectam os soros reagentes para *Salmonella* Pullorum mas também reagem para outros sorotipos pertencentes ao mesmo sorogrupo. Assim a cultura bacteriológica ainda é a técnica de eleição.

Segundo a Portaria n°126 de 03/11/1995 da Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) que aprova as normas de Credenciamento e Monitoramento de Laboratórios para diagnóstico da Pulorose (SP) e do Tifo aviário (SG), o diagnóstico de *Salmonella* spp. deve ser realizado por meio do método bacteriológico tradicional, com isolamento e identificação do agente. Estudo realizado por FERNANDES et al.

(2004) mostrou que a utilização de mais um meio de enriquecimento e de plaqueamento podem aumentar as chances de isolar *Salmonella* spp.

PREVENÇÃO E CONTROLE

São necessárias medidas de biosseguridade, tais como evitar a presença de pássaros selvagens, roedores, animais domésticos e insetos, como também criações de aves de idade múltipla em todas as etapas de manejo avícola, principalmente em granjas reprodutoras e incubatórios, para minimizar a transmissão vertical e horizontal (BERCHIERI JUNIOR & BARROW, 1995; BERCHIERI JUNIOR & FREITAS NETO, 2009).

É importante destacar o controle de *Salmonella* spp. em alimentos oferecidos às aves, pois frequentemente a bactéria está presente nos ingredientes de origem animal e vegetal utilizados na formulação das rações (CRUMP et al., 2002). Entre os tratamentos da ração e seus componentes, os mais conhecidos são a peletização e a adição de ácidos orgânicos (STERZO et al., 2007; VANDEPLAS et al., 2010), sendo os ácidos, atualmente, também administrados na água de bebida (EISSEN & VAN DER HEIJDEN, 2010). A peletização é um processo eficiente, mas não impede a contaminação da ração estocada (GAMA et al., 2003).

Devido à importância da produção avícola no contexto nacional e internacional e à necessidade de normatização das ações de acompanhamento sanitário, relacionadas ao setor avícola, o MAPA criou em 1994 o Plano Nacional de Sanidade Avícola (PNSA) (BRASIL, 2007b), considerando as enfermidades aviárias de maior importância econômica listadas pela OIE.

Em decorrência da perda econômica que estas doenças causam na avicultura e por impedir a exportação de produtos avícolas brasileiros, o Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA) contempla as *Salmonella* Gallinarum, *Salmonella* Pullorum, *Salmonella* Typhimurium e *Salmonella* Enteritidis, visando o controle dessa enfermidade em plantéis brasileiros (BRASIL, 2004).

A vacinação com sorotipos homólogos de salmonelas ajuda na redução da colonização intestinal e excreção fecal. As vacinas previnem a transmissão transovariana e a contaminação da casca dos ovos por *Salmonella* spp. Em aves vacinadas para SE, observa-se baixa freqüência de isolamento tanto em órgãos como fezes, mas as aves permanecem sorologicamente positivas (BARROW et al., 1991).

PROUX et al. (1998) realizaram vacinação com *S.* Typhimurium inativada, verificando que a vacina induz proteção de 85% em pombos que tinham sido vacinados as sete e 11 semanas de idade e de 50% em pombos que tinham sido vacinados às 11 semanas de idade, enquanto que todos os pombos do controle não vacinados morreram algumas semanas após o desafio. Nos pombos vacinados, foram detectados anticorpos contra *S.* Typhimurium utilizando a técnica de ELISA.

SILVA & DUARTE (2002) relataram o mecanismo da exclusão competitiva da SE (*Salmonella* Enteritidis), de tal maneira que, a presença da mesma em um lote de aves, impede que outro sorotipo de *Salmonella* se instale, podendo-se postular que a infecção por SE possui um excelente mecanismo de competição com outra *Salmonella*.

O método de exclusão competitiva tem se mostrado eficiente no controle de *Salmonella* spp. e consiste no oferecimento do conteúdo cecal de aves adultas saudáveis a pintinhos recém-nascidos, acelerando o processo de instalação de uma microbiota intestinal desejável (PALMU & CAMELIN, 1997).

A realização de exames periódicos que avaliem a qualidade microbiológica da água, desinfecção de veículos e fômites utilizados na criação, o plantio de cercas vivas ao redor da propriedade, a realização de quarentena dos animais que serão introduzidos, treinamento da mão-de-obra em noções básicas de higiene e Boas Práticas Agrícolas (BPA) auxiliam a redução das infecções por *Salmonella* spp. nos criatórios de aves (BRASIL, 2007a).

A seleção de linhagens genéticas de aves resistentes à infecção por *Salmonella* spp. pode ser usada em combinação com outras abordagens de controle (BARROW, 1999).

Em relação ao controle da *Salmonella* spp. em humanos, atualmente no mundo inteiro, é observado um aumento da preocupação com a qualidade do alimento. Essa alteração do comportamento do consumidor é necessária para garantir a adoção de medidas básicas de higiene durante a preparação e estocagem dos alimentos, minimizando assim a presença de salmonelas (FREITAS NETO et al, 2010).

Considerando a gravidade da doença em humanos e as perdas econômicas na produção e exportação avícola, o trabalho visa primeiramente a verificação de *Salmonella* spp. na granja, representando um risco da transmissão do agente entre as aves selvagens, de produção e os humanos que tenham contato direto. Posteriormente ao isolamento se justifica a inoculação experimental dos diversos sorotipos em pintinhos para avaliar o efeito patogênico do agente.

3. OBJETIVOS

3. 1. Pesquisar *Salmonella* spp. em:

3. 1. 1. Aves selvagens que frequentam as instalações avícolas – órgãos, conteúdo intestinal e suabe cloacal,

3. 1. 2. Frangos de corte e diversos materias que tenham contato, desde a fase de pintinhos até o abate, como: mecônio, ração no silo e nos comedouros, água do abastecimento da granja e nos bebedouros, cama aviária e cascudinhos, fezes de frangos e carcaças.

3. 1. 3. Fezes de roedores co-habitantes das instalações avícolas,

3. 1. 4. Fezes de suínos criados em galpões na mesma propriedade.

3. 2. Pesquisar em soro sanguíneo de aves selvagens anticorpos anti-*Salmonella* (teste de Pulorose), utilizando a técnica de Soroaglutinação Rápida em Placa (SAR).

3. 3. Realizar inoculação experimental de diferentes sorotipos de *Salmonella* isolados no item 3. 1. em pintos de um dia (frangos de corte).

3. 4. Verificar os sinais clínicos, mortalidade e lesões (macro/micro) em órgãos das aves inoculadas experimentalmente do item 3. 3.

3. 5. Pesquisar por meio de isolamento, o agente nas fezes e nos órgãos das aves infectadas, conforme o item 3. 3.

4. MATERIAL E MÉTODOS

A colheita de material dessa pesquisa foi realizada numa granja avícola do Estado de São Paulo e todo o processamento laboratorial foi desenvolvido no Departamento de Patologia Veterinária (DPVe) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Câmpus de Jaboticabal. Todos os procedimentos realizados nessa pesquisa foram analisados e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da FCAV.

4. 1. Instalação avícola

A pesquisa foi realizada em cooperação com uma granja avícola de frango de corte (figuras 1, 2 e 3) integrada à empresa González, localizada no nordeste do Estado de São Paulo distante entre duas rodovias estaduais a 6,6 Km e 4,6 Km, respectivamente, e a 6 km do centro de Monte Alto, Estado de São Paulo. Ao redor da granja, existem plantações de milho, laranja e eucalipto, além de cana-de-açúcar, predominante na região. Na granja existiam oito galpões avícolas distantes entre si de aproximadamente 20 e 30 metros, onde a vegetação era mista de capim, erva-daninhas e algumas árvores frutíferas, palmeiras, bananeiras e amoreiras.



Figura 1: Vista externa do galpão avícola de frango de corte da propriedade localizada no município de Monte Alto-SP (Foto: arquivo pessoal).



Figura 2: Vista externa do galpão avícola de frango de corte da propriedade localizada próxima a Monte Alto-SP, onde estão duas corujas buraqueiras (*Speotyto cunicularia*) no telhado (Foto: arquivo pessoal).



Figura 3: Vista interna do galpão avícola da propriedade localizada próxima a Monte Alto-SP em situação de vazio sanitário, mostrando a cama aviária de casca de amendoim que será reutilizada em lote subsequente e com a presença de penas (Foto: arquivo pessoal).

Como medidas de biosseguridade na granja, esta apresentava apenas uma única entrada e saída, controlando assim o fluxo de pessoas e caminhões. Uma outra medida era a adoção do sistema de criação “todos dentro e todos fora”, ou seja, todos os oito galpões recebiam pintinhos na mesma época e a transferência de todas as aves prontas para o abate também acontecia numa única época, de tal maneira, que todos os galpões passavam por um vazio sanitário simultâneo de no mínimo 10 dias.

À entrada dos galpões não existiam pedilúvios com desinfetante, nem cal. As aves mortas encontradas no galpão eram incineradas. Os funcionários responsáveis pelos galpões das aves não realizavam troca de roupa ou de calçados, nem tomavam banho antes de entrarem nos galpões. A cama aviária, de casca de amendoim era reaproveitada durante 3 a 4 lotes (aproximadamente seis meses no total).

No interior dos galpões vazios (figuras 4 e 5) ou com frangos de corte, (figura 6) foram observadas aves selvagens.



Figura 4: Presença de aves selvagens no interior do galpão avícola de propriedade localizada próxima a Monte Alto-SP, em situação de vazio sanitário (Foto: arquivo pessoal).



Figura 5: Presença de anus-pretos (*Crotophaga ani*) no interior do galpão avícola de propriedade localizada próxima a Monte Alto-SP, em vazio sanitário (Foto: arquivo pessoal).



Figura 6: Presença de ave selvagem (*Columbina talpacoti*) no interior do galpão avícola de propriedade localizada próxima a Monte Alto-SP, logo após a chegada e alojamento dos pintinhos de um dia no galpão. As manchas claras na parte superior da foto são artefatos na lente da máquina em decorrência da alta umidade e temperatura do local (Foto: arquivo pessoal).

Quanto à ração utilizada na granja, esta era fornecida pronta pela empresa integradora e armazenada em silos próximos aos galpões. Tanto as matérias-primas quanto as rações prontas da empresa fabricante foram submetidas periodicamente a análises microbiológicas e bromatológicas em laboratórios certificados pelo MAPA.

Os pintinhos provenientes de um único fornecedor foram vacinados contra a doença de Marek e Gumboro, ainda no incubatório. Contra a doença de Newcastle as aves foram vacinadas ao primeiro dia no galpão da granja.

Na mesma propriedade existiam além dos galpões de aves quatro baias de suínos de várias faixas etárias, distantes 60 metros dos galpões das aves. Os funcionários desse setor esporadicamente auxiliavam nas atividades relacionadas com os frangos de corte, utilizando as mesmas roupas e botas.

4. 2. Animais e material biológico colhido

4. 2. 1. Aves selvagens capturadas nas instalações avícolas

Para essa pesquisa foram capturados, ao longo de um ano, 36 exemplares de aves selvagens dentro dos galpões de frangos de corte.

Para a captura das aves foram utilizadas rede de neblina, rede comum (figura 7), alçapões e armadilhas diversas dependendo da biologia e comportamento da espécie em questão. Apesar de utilizar diversos métodos para captura das aves fora dos galpões, essas técnicas não foram satisfatórias. Todas as 36 aves foram capturadas dentro dos galpões de frangos de corte durante o vazio sanitário, sendo o método mais fácil encontrado, realizado manualmente com ajuda de redes e puçás.

Toda a manipulação das aves (captura, colheita de material biológico, transporte e eutanásia) foi devidamente autorizada pelo IBAMA (autorização n° 14909-1 - registro no IBAMA n° 1902993).



Figura 7: Rede comum colocada nas vegetações ao redor de galpão avícola em propriedade localizada próxima a Monte Alto-SP (Foto: arquivo pessoal).

As aves após a captura foram pesadas e examinadas quanto ao estado nutricional, temperatura corporal, coloração de mucosas, aspectos gerais de aberturas naturais (bico, olhos, ouvidos, cloaca) e presença de ectoparasitas.

Foram colhidos os seguintes materiais:

- Sangue: a colheita de sangue foi realizada com a ave anestesiada com a associação de Tiletamina e Zolazepan (Zoletil 50®), na dose 2-10 mg/Kg, por via intramuscular (IM). Com auxílio de seringas de 1mL ou 3mL e agulhas de calibre 13 x 4,5 ou 25 x 7, foram colhidas amostras de sangue (volume máximo de 1% do peso da ave) das veias ulnar, braquial, jugular direita ou do tarso. O sangue após a colheita, foi centrifugado a 4.000 rpm por 10 minutos, o soro separado e destinado para a realização da SAR (Soroaglutinação Rápida em Placa).
- Conteúdo cloacal: utilizando suabes estéreis individuais, para cultura de *Salmonella* spp.
- Órgãos e conteúdo intestinal para isolamento de *Salmonella* spp.: após a colheita de sangue e do conteúdo cloacal, as aves foram eutanasiadas com dose complementar do mesmo anestésico (Zoletil 50®, 40 mg/Kg), por via intramuscular (IM). Logo após a morte da ave, foram colhidos assepticamente, fragmentos de fígado, baço, pulmão, rim, gônadas e

conteúdo intestinal (porção final do intestino grosso), sendo colocados em tubos de ensaio esterilizados contendo solução de pré-enriquecimento (caldo nutriente Difco®). O conteúdo intestinal foi colocado em tubo separado do restante dos órgãos.

- Órgãos para exames histopatológicos: de cada ave foram colhidos fragmentos de fígado, baço, gônadas, intestinos, ceco, proventrículo, ventrículo, rim, pulmão, coração e bolsa cloacal. Os órgãos foram armazenados em formol tamponado 1:9 para a confecção de lâminas histopatológicas.

4. 2. 2. Aves de produção

As amostras provenientes das aves de produção foram colhidas de seis lotes de frangos de corte de diversos galpões, sendo que cada lote completo (chegada do pintinho de um dia até a saída das aves para o abate com aproximadamente 45 dias de vida).

Foram colhidos para isolamento de *Salmonella* spp., os seguintes materiais:

- Mecônio e penugens de pintos de um dia: de cada caixa de transporte foi colhido material (figuras 8 e 9), com um suabe, correspondente uma amostra desses materiais. Então 10 suabes foram agrupados em um “pool”, sendo considerados uma amostra e, colocadas em frascos contendo 40 mL de solução de pré-enriquecimento. Esses materiais foram colhidos sempre que chegaram pintinhos na granja.
- Ração: amostras de ração foram colhidas no silo e nos comedouros, sendo 40 gramas de ração em frascos contendo 40 mL de solução de pré-enriquecimento. A ração foi colhida a cada 15 dias de vários comedouros dentro dos galpões e em silos fora dos galpões, perfazendo um “pool”.
- Água: foram colhidas amostras de água utilizada fora dos galpões (torneiras) e dentro (bebedouros), oferecida às aves, sendo 40 mL de água em frascos contendo 40 mL de solução de pré-enriquecimento. A água foi colhida de vários locais diferentes, a cada 15 dias.

- Fezes frescas: foram colhidas fezes frescas existentes nas camas do aviários, com auxilio de suabes esterilizados, tanto de pintinhos (figura 10) como de frangos. As colheitas foram realizadas em três momentos, sendo momento um no dia da chegada à granja, momentos dois e três após 15 e 45 dias de vida das aves, respectivamente. Os suabes foram agrupados em “pools” contendo 10 unidades e denominados cada “pool” de uma amostra e, colocadas em frascos contendo 40 mL de solução de pré-enriquecimento.
- Carcaças de frangos de corte: encontradas no galpão, tanto de pintinhos como de aves adultas, foram colhidos fragmentos de órgãos (fígado, pulmão, gônadas, rim, baço), intestino com conteúdo intestinal e suabe cloacal, sendo colocados individualmente em frascos contendo 40 mL de solução de pré-enriquecimento.
- Cama aviária: com auxilio de suabes esterilizados foram colhidas amostras de cama aviária usada nos galpões em três momentos, ou seja, no dia da chegada dos pintinhos e após 15 e 45 dias da instalação dos animais. As colheitas foram realizadas em seis pontos diferentes dentro dos galpões (dois na frente, dois no meio e dois no fundo). As amostras foram agrupadas em “pools”, contendo 10 suabes cada e, colocadas em frascos contendo 40 mL de solução de pré-enriquecimento.
- Cascudinhos (*Alphitobius diaperinus*) larvas e adultos vivos presentes na cama aviária (figura 11). As amostras foram pesadas em 15 gramas cada, maceradas e, colocadas em frascos contendo 40 mL de solução de pré-enriquecimento.



Figura 8: Chegada dos pintinhos à granja avícola da propriedade localizada próxima a Monte Alto-SP (Foto: Arquivo pessoal).



Figura 9: Colheita de suabes de caixas dos pintinhos, na chegada à granja avícola da propriedade localizada próxima a Monte Alto-SP (Foto: Arquivo pessoal).



Figura 10: Colheita de fezes de pintinhos no primeiro dia de alojamento na granja avícola da propriedade localizada próxima de Monte Alto-SP (Foto: Arquivo pessoal).

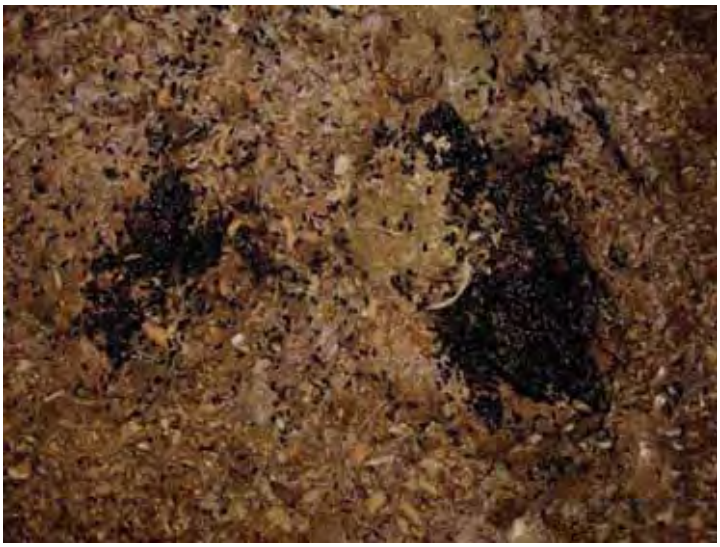


Figura 11: Amostras de cascudinhos (*Alphitobius diaperinus*) na cama aviária usada na granja avícola da propriedade localizada próxima a Monte Alto-SP (Foto: Arquivo pessoal).

4. 2. 3. Roedores

Foram colhidas fezes de roedores (figura 12) encontradas nos forros de lona, dentro dos galpões, que foram vistoriados no intervalo de 15 dias.



Figura 12: Amostras de fezes de roedores encontradas nos forros dos galpões da granja avícola (Foto: arquivo pessoal).

4. 2. 4. Suínos

Os animas de diversas idades, eram criados em baias na mesma propriedade, distante aproximadamente de 60 metros dos galpões avícolas. Desses animais foram colhidas mensalmente, com suabes esterilizados, 10 amostras de fezes frescas, correspondendo a um “pool”. No total foram colhidas amostras durante 15 meses.

4. 3. Técnicas laboratoriais

Todos os materiais biológicos colhidos para a pesquisa de *Salmonella* spp. foram processados no Laboratório de Ornitopatologia do DPVe da FCAV-UNESP (Nível de biossegurança dois), sob orientação do Prof. Dr. Ângelo Berchieri Junior.

4. 3. 1. Teste sorológico para pesquisa de anticorpos anti-*Salmonella* (teste de Pulorose)

Para a realização dessa técnica, foi utilizado soros de aves selvagens, conforme descrito no item 4. 2. 1. O antígeno para SAR usado nessa pesquisa foi da marca Biovet®.

A técnica de SAR consiste na homogenização de uma gota de antígeno (SP) com uma gota de soro a ser testado, sendo realizado em placa de vidro e à temperatura ambiente de 20 a 25°C.

A reação positiva é caracterizada pela formação de grumos no prazo de dois minutos (figura 13), após a mistura do soro com o antígeno, sendo cada teste realizado junto com os controles positivo e negativo, este último obtido pela reação de antígeno puro misturado à solução salina tamponada.

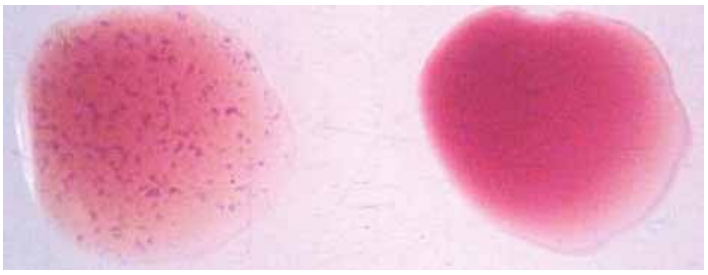


Figura 13: Reações da técnica de SAR: à esquerda positiva (formação de grumos) e à direita negativa (Foto: Arquivo pessoal).

4. 3. 2. Cultura e isolamento para *Salmonella* spp.

As etapas necessárias para o isolamento e identificação de espécimes do gênero *Salmonella* incluem diversas etapas, tais como: pré-enriquecimento, enriquecimento direto (seletivo), plaqueamento em meios semi-sólidos, análise bioquímica e tipificação sorológica de acordo com a metodologia modificada de LITCHFIELD (1973).

Os materiais colhidos de acordo com o item 4. 2., foram destinados para a cultura de *Salmonella* spp.*,* sendo armazenados separadamente em frascos contendo solução de pré-enriquecimento (caldo nutriente Difco®) e incubados por 24 horas, a 37°C. Em seguida, alíquotas de 0,1 mL desta solução foram transferidas para tubos contendo 10 mL de Rappaport (RP) e 1 mL da solução inicial com o caldo nutriente foi transferida para tubos contendo 10 mL de Selenito (SN) e incubados a 37° C, por 24 horas (figura 14). Após o enriquecimento seletivo, cada caldo foi plaqueado em três diferentes meios de cultivo: Ágar Verde Brilhante (VB) (OXOID CM 263), Ágar de MacConkey (MC) (OXOID CM 115) e Ágar xilose-lisine-tergitol (XLT-4) (Bacto XLT-4, 223420, Difco), sendo todas as placas incubadas a 37°C, por 24 horas (figura 15). De cada placa, três colônias

sugestivas do gênero *Salmonella* (figura 16) foram inoculadas em tubos contendo agar TSI (Triple Sugar Iron) (OXOID CM 277) inclinado e em LIA (Lisina Iron Agar) (OXOID CM 381). As colônias positivas no TSI e LIA (figura 17) foram submetidas ao teste de aglutinação em lâmina, com soros polivalentes anti-antígenos somáticos (O) e anti-antígenos flagelares (H) de *Salmonella*, sendo posteriormente encaminhadas ao Laboratório Adolfo Lutz, SP, para a tipificação.



Figura 14: Sequência dos meios para isolamento de *Salmonella* spp., (da esquerda para direita) caldo nutriente com amostra, caldos SN e RP. Laboratório de Ornitopatologia, UNESP-FCAV Jaboticabal (Foto: Arquivo pessoal).



Figura 15: Continuação da figura 14. Passagem das amostras em meio líquido SN e RP para as placas de MC, VB e XLT4. Laboratório de Ornitopatologia, UNESP-FCAV Jaboticabal (Foto: Arquivo pessoal).

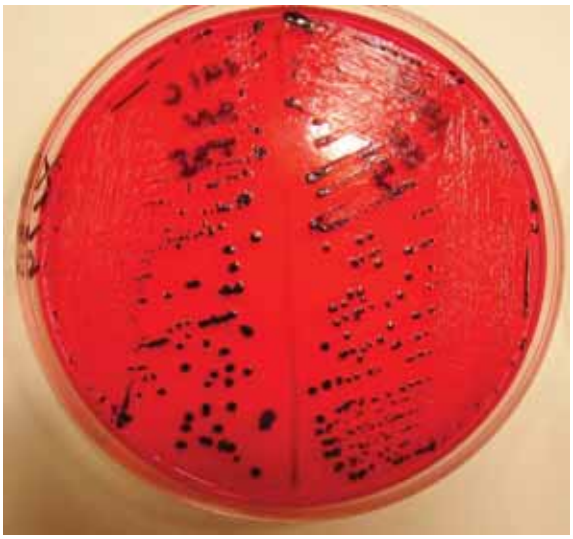


Figura 16: Colônias sugestivas de *Salmonella* spp. em ágar XLT-4. Laboratório de Ornitopatologia, UNESP-FCAV Jaboticabal (Foto: Arquivo pessoal).



Figura 17: Reação do meio TSI (Triple Sugar Iron) - à esquerda e do meio LIA (Lisina Iron Agar) - à direita, sugestivo para *Salmonella* spp. Laboratório de Ornitopatologia, UNESP-FCAV Jaboticabal (Foto: Arquivo pessoal).

4. 3. 3. Exames histopatológicos

Os órgãos das aves selvagens capturadas foram previamente fixados em formol a 10% tamponado e destinados à confecção rotineira de lâminas histológicas, coradas com hematoxilina – eosina (HE), no laboratório de histotecnologia do DPVe da FCAV-UNESP.

4. 4. Infecção Experimental

A metodologia adotada para a infecção experimental foi semelhante à técnica usada por vários pesquisadores (PINHEIRO et al., 2001; OLIVEIRA et al., 2005; RIBEIRO et al., 2005).

4. 4. 1. Preparação de sorotipos resistentes ao ácido nalidíxico (Nal^R)

A infecção experimental dos pintinhos de um dia foi realizada com os nove sorotipos de *Salmonella* previamente isolados a partir de amostras de ave selvagem, fezes de frangos de corte, cama aviária, cascudinhos, água e suínos.

Os sorotipos isolados foram processados para se tornarem resistentes ao antibiótico (ácido nalidíxico), controlando o crescimento de outras bactérias que poderiam prejudicar a multiplicação do sorotipo de *Salmonella* em questão. Para tanto, uma alíquota de cada colônia do sorotipo previamente isolado na primeira etapa desse estudo foi adicionado em um frasco contendo 10mL de caldo Luria Bertani (LB) e incubado em agitação a 37°C, por 24horas. A seguir, a cultura foi centrifugada a 4.000 rpm, por 30 minutos, a 4°C e o sobrenadante foi descartado, restando o pellet da bactéria que ficou aderido no fundo do tubo. A seguir, este foi homogenizado com 1mL de caldo LB acrescido ao tubo. Posteriormente, foi transferido 0,5mL desse caldo para uma placa de ágar MacConkey contendo ácido nalidíxico (50µg/mL), sendo distribuído na superfície do agar, com a ajuda de uma alça em L, e incubada a 37°C por 24horas. Com o auxilio de alça de platina, algumas colônias foram removidas e novamente plaqueadas em meio MacConkey contendo ácido nalidíxico, incubados a 37°C, por 24horas. Esse processo foi repetido mais uma vez, totalizando três culturas subseqüente da bactéria em meios MacConkey enriquecido com ácido nalidíxico para induzir a resistência do sorotipo ao antibiótico utilizado. Após a última incubação, uma colônia foi submetida ao antibiograma para confirmação da resistência ao ácido nalidíxico. Prosseguindo, submeteu-se a bactéria a testes com soros anti-antígenos somáticos e flagelares de *Salmonella* e selecionou-se uma colônia para

utilização na infecção experimental. Todo esse procedimento foi repetido para cada sorotipo de *Salmonella* isolado, totalizando nove sorotipos.

4. 4. 2. Preparo das amostras

Para preparar as amostras a serem inoculadas nos animais, foram utilizadas as colônias de *Salmonella* Nal^R obtidas no item 4. 4. 1. Essas colônias foram diluídas em 10mL de caldo LB e incubadas a 37ºC, por 24 horas, em agitação (100 rpm). Posteriormente 0,1mL da cultura foi diluída em solução salina tamponada pH 7,4 (PBS) na proporção de 1:10 e diluídas decimalmente até 10^{-6}. De cada diluição foi espalhado 0,1mL para uma placa contendo ágar Verde Brilhante (VB), a qual foi incubada por 24h, a 37ºC. Decorrido este período, procedeu-se à contagem bacteriana (figura 18). As culturas continham 1,2 x 10^8 unidades formadoras de colônias/mL (UFC/mL). Esse preparo foi realizado individualmente para cada sorotipo isolado.

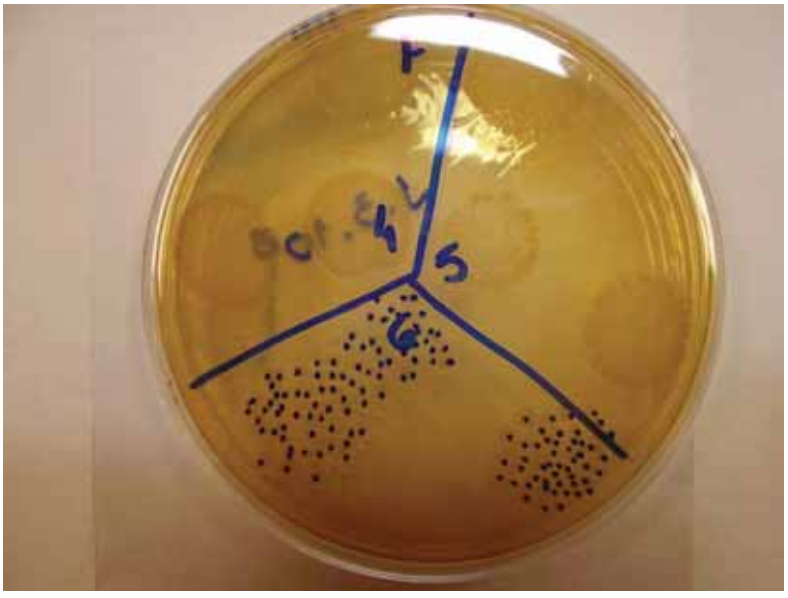


Figura 18: Placa de ágar VB subdividida em três campos, onde foram aplicadas 0,1mL (três gotas) da alíquota devidamente diluída por campo. Contagem da UFC por campo (Foto: Arquivo pessoal).

4. 4. 3. Estudo da infecção em aves jovens

Para a realização da infecção experimental, foram utilizados pintos de um dia de idade, de linhagem comercial procedentes de um incubatório localizado no Estado de São Paulo. O experimento foi conduzido em salas de infecção isoladas localizadas próximo ao laboratório de ornitopatologia no DPVe da FCAV-UNESP. Essas salas tinham controle de temperatura, luminosidade (artificial) e ventilação (figuras 19 e 20).



Figura 19: Vista externa das salas de infecção experimental, localizadas no DPVe, anexo ao Laboratório de Ornitopatologia, UNESP-FCAV Jaboticabal (Foto: Arquivo pessoal).



Figura 20: Vista interna da sala de infecção, ressaltando o sistema de filtração e refrigeração de ar (controlador de ventilação), localizado no DPVe, anexo ao Laboratório de Ornitopatologia, UNESP-FCAV Jaboticabal (Foto: Arquivo pessoal).

Os pintinhos de um dia ao chegarem à FCAV foram separadas em nove grupos de 15 aves cada, sendo que cada ave recebeu, via oral (cânula), 0,1mL da cultura contendo 1,2 x 10^8 UFC/mL, dos respectivos sorotipos (figura 21). A seguir foram colocados em baterias metálicas (figura 22), recebendo água e ração "*ad libitum*". A ração era proveniente da fábrica de rações da FCAV-UNESP e era à base de milho, soja e premix comercial, sem adição de antibióticos. Tanto a água quanto a ração foram previamente testados (cultura bacteriana) para *Salmonella* spp. No momento da chegada dos pintinhos de um dia, foi realizada a cultura do material (mecônio e penugens) existente no fundo das caixas de transporte.



Figura 21: Inoculação via oral, da cultura de *Salmonella*, com o auxílio de uma cânula esofágica (Foto: Arquivo pessoal).



Figura 22: Pintinhos da infecção experimental, mantidos em baterias metálicas com água e ração "*ad libitum*" (Foto: Arquivo pessoal).

As aves foram observadas, duas vezes ao dia para se verificar alterações no comportamento, como por exemplo, o afastamento ou aproximação da fonte de calor, ingestão de alimentos e água, movimentação dentro do recinto e aspecto das fezes.

Foram colhidos para cultura suabes de cloaca de cada ave nos intervalos de tempo de 24 horas, oito dpi (dias pós-infecção) e 15 dpi. Esses suabes foram colocados em tubos contendo caldo selenito adicionado de novobiocina (SN) e em seguida plaqueados em ágar Verde Brilhante (figura 23).

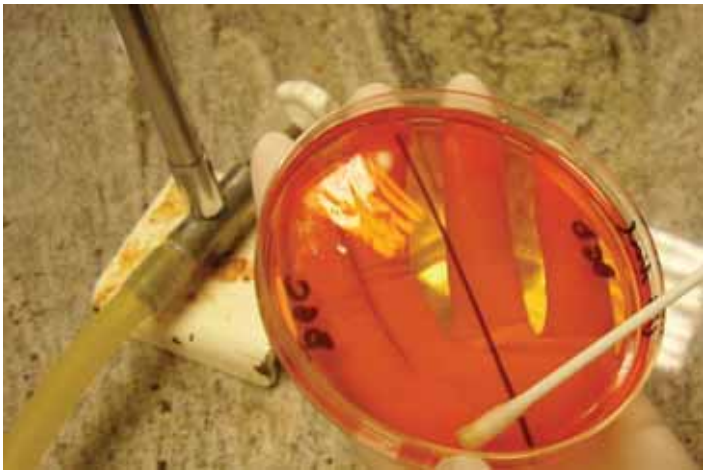


Figura 23: Plaqueamento dos suabes de cloaca em ágar Verde Brilhante (Foto: Arquivo pessoal).

Aos 15 dpi foi realizada eutanásia (deslocamento cervical) da metade (sete aves) de cada grupo e aos 21 dpi foi realizada eutanásia do restante dos grupos (oito aves), sendo realizadas necropsias também quando houve morte natural.

Todos os animais foram necropsiados, sendo realizados a colheita de suabes de fígado (figura 24), baço e conteúdo cecal de cada ave para serem colocados em tubos contendo caldo selenito, adicionado de novobiocina (SN) e incubados a 37°C, por 24 horas. Em seguida, os caldos foram semeados em placas contendo ágar Verde Brilhante (VB) e incubados a 37°C, por 24 horas. Em seguida foi realizada leitura das placas para se verificar a presença de *Salmonella* em órgãos e conteúdo cecal.



Figura 24: Colheita de suabe de fígado de frango experimentalmente infectado (Foto: Arquivo pessoal).

Foram colhidos e fixados em formol 10% tamponado fragmentos de fígado, baço, gônadas, ceco, intestino delgado com pâncreas, íleo, coração e bolsa cloacal para posterior confecção de lâminas histopatológicas, coradas com hematoxilina – eosina (HE).

5. RESULTADOS

5. 1. Aves selvagens

5. 1. 1. Espécies capturadas

No total foram capturadas e estudadas 36 aves selvagens encontradas no interior de galpões de frangos de corte, durante o vazio sanitário. Durante esse período foi observado um aumento do número de aves selvagens dentro dos galpões em busca de alimentos.

As visitas à granja avícola aconteciam a cada 15 dias ao longo de 15 meses. O número de aves capturadas variou de acordo com as estações do ano, sendo capturadas 16 aves (44,44%) durante os meses de verão, 12 aves (33,33%) na primavera, quatro aves (11,11%) no outono e quatro aves (11,11%) no inverno.

Todas as aves estudadas pertenciam a cinco ordens e oito espécies. As ordens com maior número de representantes foram Cuculiformes (44,44%), Columbiformes (38,89%) e Piciformes (8,33%).

Os dados referentes às espécies capturadas e suas respectivas freqüências estão listadas na Tabela 1.

Das aves que foram analisadas, 24 (66,67%) eram machos e 12 (33,33%) eram fêmeas. Todas as aves eram adultas.

5. 1. 2. Exame clínico

Em todas as aves examinadas foram avaliados os parâmetros como: temperatura corporal, estado nutricional, aspecto das mucosas e aberturas naturais. Nenhuma ave apresentou sinais de alteração nos parâmetros avaliados. A temperatura corpórea variou de 39° a 42°C, sendo considerada dentro dos parâmetros de normalidade. Quanto à procura por ectoparasitos, nenhum foi encontrado.

Tabela 1: Relação das ordens, espécies e número de aves capturadas na granja avícola da propriedade localizada próxima de Monte Alto-SP.

Ordem e espécies	N° de aves
Cuculiformes (44,44%)	
anu preto (*Crotophaga ani*)	14
anu branco (*Guira guira*)	2
Columbiformes (38,89%)	
rolinha (*Columbina talpacoti*)	9
pomba (*Patagioenas plumbea*)	2
pomba (*Zenaida auriculata*)	3
Piciformes (8,33%)	
pica-pau do campo (*Colaptes campestris*)	3
Charadriiformes (5,56%)	
quero-quero (*Vanellus chilensis*)	2
Passeriformes (2,78%)	
bem-te-vi (*Pitangus sulphuratus*)	1
TOTAL	**36**

5. 1. 3. Teste para pesquisa de anticorpos anti-*Salmonella* (teste de pulorose)

Foram realizados testes de SAR para SP em 36 soros e todas as aves foram positivas para essa técnica sorológica.

5. 1. 4. Cultura e isolamento para *Salmonella* spp.

Das 36 aves estudadas, foi realizada a cultura de órgãos, de suabe de cloaca e de conteúdo intestinal. Somente em uma ave (*Colaptes campestris* - pica-pau-do-campo) isolou-se *Salmonella* Heidelberg de órgãos e conteúdo intestinal.

5. 1. 5. Achados macroscópicas

Durante as necropsias, foram observadas poucas alterações como, esplenomegalia em dois anus pretos e uma pomba. Na maioria das aves da ordem Cuculiformes, foi observado ventrículos repletos de larvas e adultos de cascudinhos (*Alphitobius diaperinus*).

5. 1. 6. Achados microscópicas

A leitura das lâminas histológicas dos órgãos (pulmão, coração, intestinos, fígado, músculo, ventrículo e proventrículo) colhidos revelou raras alterações. No pica-pau-do-campo (*Colaptes campestris*), do qual foi isolado *Salmonella* Heidelberg, somente foi observado nos pulmões antracose moderada difusa periparabronquial. Em uma rolinha caldo de feijão (*Columbina talpacoti*), observou-se bactérias (bastonetes) no duodeno e em um bem-te-vi (*Pitangus sulphuratus*), degeneração lipídica difusa em fígado.

5. 2. Aves de produção

As amostras provenientes dos frangos de corte foram colhidas de seis lotes de frangos, durante os 45 dias de permanência de cada lote. A relação da quantidade das amostras examinadas para *Salmonella* spp.e os respectivos resultados estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2: Sorotipos de *Salmonella* isolados de diferentes amostras colhidas na granja avícola da propriedade localizada próxima de Monte Alto-SP.

.

TIPO E N° DE AMOSTRAS	RESULTADO/SOROTIPO/FREQUENCIA
Água (25 amostras) (8%)	***S.* Glostrup (uma amostra)** ***S. enterica* subsp. *enterica* sorotipo 6,8:d:- (uma amostra)**
Insetos (*Alphitobius diaperinus*) (25 amostras contendo 15g cada) (4%)	***S.* Tennessee (uma amostra)**
Cama aviária (47 amostras) (6,3%)	***S. enterica* subsp. *enterica* sorotipo 4,5,12:R:- (uma amostra)** ***S.* Heidelberg (uma amostra)** ***S.* Infantis (uma amostra)**
Fezes de frango de corte (36 amostras) (11,1%)	***S.* Heidelberg (uma amostra)** ***S. enterica* subsp. *enterica* sorotipo 6,7:R:- (uma amostra)** ***S. enterica* subsp. *enterica* sorotipo 4,5,12:R:- (uma amostra)** ***S.* Tennessee (uma amostra)**
Fezes de suínos (15 amostras) (26,6%)	***S.* Panama (duas amostras)** ***S.* Typhimurium (duas amostras)**
Fezes de roedores (30 amostras contendo 20g cada)	**Negativo**
Suabes de caixas de transporte de pintos (20 amostras)	**Negativo**
Carcaças de frangos (25 amostras)	**Negativo**
Ração dos frangos (25 amostras)	**Negativo**

5. 3. Infecção Experimental

As culturas prévias realizadas antes da infecção experimental das caixas de transporte usadas para pintinhos de um dia, como também da água e da ração consumidas foram negativas para *Salmonella*.

5. 3. 1. Avaliação clínica dos pintinhos pós-infecção

Em todos os nove grupos de aves experimentalmente infectadas, foi observada entre o terceiro dpi (dia pós-infecção) e 12° dpi a presença de fezes amolecidas no chão das gaiolas, ao redor da cloaca e na penugem das aves (figura 25).

Houve apenas uma morte no 14° dpi no grupo de aves infectadas com *S. enterica* subsp. *enterica* 6,7:R:-.



Figura 25: Presença de fezes amolecidas nas penas, ao redor da cloaca dos pintinhos infectados experimentalmente (quinto dpi) com *S.* Typhimurium. (Foto: Arquivo pessoal).

5. 3. 2. Isolamento de *Salmonella* spp.

Os suabes de cloaca colhidos das aves ao primeiro (figura 26), oitavo e 15° dpi foram processados para isolamento de *Salmonella.* Nas primeiras duas colheitas (1° e 8° dpi), foram avaliadas 15 aves de cada grupo, enquanto que ao 15° dpi foram colhidas amostras de oito aves de cada grupo infectado, como mostram os respectivos resultados da Tabela 3.

Ao 15° e 21º dpi, foram abatidas de cada grupo, sete e oito aves, respectivamente. Durante a necropsia (figura 27), foram colhidos assepticamente suabes de fígado, baço e conteúdo cecal para se verificar a presença do sorotipo de *Salmonella* spp. inoculado. Os resultados estão na Tabela 4.



Figura 26: Realização de suabe de cloaca em pintinho ao 1° dpi (Foto: Arquivo pessoal).



Figura 27: Necropsia, colheita de suabes e fragmentos de órgãos de frangos ao 21° dpi. Laboratório de Ornitopatologia, UNESP-FCAV Jaboticabal (Foto: Arquivo pessoal).

Tabela 3: Freqüência dos diversos sorotipos de *Salmonella* spp. Nal^R isolados das aves infectadas experimentalmente ao 1º, 8º e 15º dpi em relação ao número total de suabes cloacais realizados.

SOROTIPOS	**Dias pós-infecção**		
	1°	**8°**	**15°**
***S. enterica* subsp. *enterica* sorotipo 4,5,12:R:-**	15/15	15/15	8/8
***S.* Heidelberg**	15/15	15/15	8/8
***S. enterica* subsp. *enterica* sorotipo 6,7:R:-**	15/15	15/15	8/8
***S.* Tennessee**	15/15	14/15**	8/8
***S.* Glostrup**	15/15	15/15	8/8
***S.* Panama**	13/15*	15/15	8/8
***S.* Typhimurium**	15/15	15/15	8/8
***S. enterica* subsp. *enterica* sorotipo 6,8:d:-**	15/15	15/15	8/8
***S.* Infantis**	15/15	15/15	8/8

*De duas aves do grupo infectado com *S.* Panama (1º dpi) não foi isolado o agente.

**,De uma ave do grupo infectado com *S.* Tennessee (8º dpi), não foi isolado o agente.

Tabela 4: Relação do número de suabes positivos, colhidos do fígado, baço e conteúdo cecal das aves, ao 15° e 21° dpi, infectadas com diferentes sorotipos de *Salmonella*.

SOROTIPOS	ÓRGÃOS							
	FÍGADO		BAÇO		FIG/BAÇO *		CONTEUDO CECAL	
	15 dpi	21 dpi	15 dpi	21 dpi	15 dpi	21 dpi	15 dpi	21 dpi
***S. enterica* subsp. *enterica* sorotipo 4,5,12:R:-**	4/7	0/8	5/7	3/8	4/7	0/8	7/7	8/8
***S.* Heidelberg**	2/7	0/8	2/7	0/8	1/7	0/8	7/7	8/8
***S. enterica* subsp. *enterica* sorotipo 6,7:R:-**	2/7	1/8	4/7	1/8	2/7	1/8	7/7	8/8
***S.* Tennessee**	0/7	0/8	3/7	1/8	0/7	0/8	7/7	8/8
***S.* Glostrup**	0/7	0/8	3/7	1/8	0/7	0/8	7/7	8/8
***S.* Panama**	0/7	0/8	2/7	0/8	0/7	0/8	7/7	8/8
***S.* Typhimurium**	2/7	1/8	7/7	4/8	2/7	0/8	7/7	8/8
***S. enterica* subsp. *enterica* sorotipo 6,8:d:-**	1/7	0/8	3/7	1/8	1/7	0/8	7/7	8/8
***S.* Infantis**	1/7	3/8	3/7	3/8	0/7	2/8	7/7	8/8
TOTAL	12/63	5/72	32/63	14/72	10/63	3/72	63/63	72/72

*Nessa coluna os vários sorotipos foram isolados aos 15 e 21 dpi, tanto do fígado quanto do baço.

Aos 15 dpi, os diferentes sorotipos de *Salmonella* estavam presentes em todas as 63 aves (100%) das amostras do conteúdo cecal. No fígado e no baço,

de forma independente aos diferentes sorotipos de *Salmonella*, foram isolados de 12 (19%) e 32 (50,8%) aves, respectivamente. O isolamento concomitante de *Salmonella* de fígado e baço foi observado em 10 (15,8%) aves.

Aos 21 dpi, os diferentes sorotipos de *Salmonella* estavam presentes em todas as 72 aves (100%) das amostras do conteúdo cecal. No fígado e no baço, de forma independente, os diferentes sorotipos de *Salmonella*, foram isolados de 5 (6,94%) e 14 (19,4%) aves, respectivamente. O isolamento concomitante de *Salmonella* de fígado e baço foi observado em 3 (4,16%) aves.

5. 3. 3. Achados macroscópicas

As aves abatidas apresentaram algumas alterações macroscópicas, como por exemplo, petéquias/sufusões na musculatura do peito (figura 28) e manchas claras encontradas no baço com tamanhos variando de 0,1 cm a 0,4 cm (figura 29).

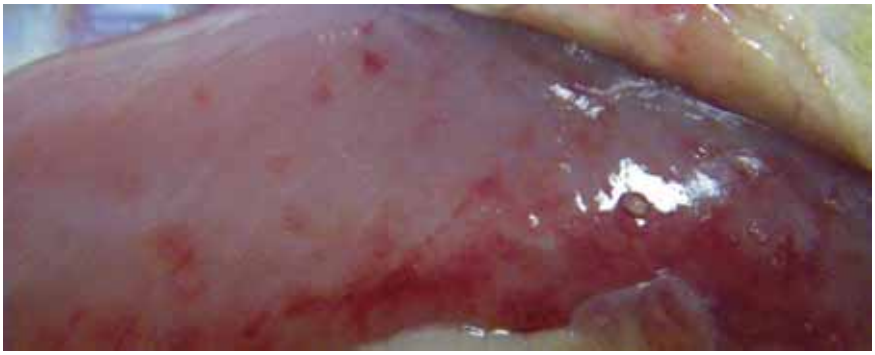


Figura 28: Presença de petéquias/sufusões na musculatura peitoral de frango de corte infectado experimentalmente com *Salmonella* Glostrup (Foto: Arquivo pessoal).



Figura 29: Presença de manchas claras observadas no baço de frango de corte infectado experimentalmente (21° dpi) com *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorotipo 4,5,12:R:- (Foto: Arquivo pessoal).

Os achados macroscópicos observados durante as necrópsias das 135 aves infectadas estão copilados na tabela 5.

Tabela 5: Descrição dos achados macroscópicos e sua ocorrência observada nas aves experimentalmente infectadas com os diferentes sorotipos de *Salmonella* e abatidas aos 15 e 21 dpi.

SOROTIPOS	**ÓRGÃOS/TECIDOS**						
	FÍGADO			**BAÇO**		**MUSCULATURA**	
	Coloração vermelho clara	**Presença de áreas claras**	**Órgão vermelho claro com áreas claras**	**Presença de áreas claras**	**Espleno-megalia**	**Petéquias na coxa**	**Petéquias no peito**
***S. enterica* subsp. *enterica* sorotipo 4,5,12:R:-**	-	-	-	1	-	-	4
***S.* Heidelberg**	-	-	-	-	-	-	-
***S. enterica* subsp. *enterica* sorotipo 6,7:R:-**	-	-	-	-	-	-	-
***S.* Tennessee**	1	6	-	-	4	1	1
***S.* Glostrup**	3	4	1	-	5	2	1
***S.* Panama**	3	3	-	-	5	4	1
***S.*Typhimurium**	-	-	-	-	-	1	1
***S. enterica* subsp. *enterica* sorotipo 6,8:d:-**	-	-	-	-	-	-	-
***S.* Infantis**	3	5	-	-	5	3	3
TOTAL	10/135	18/135	1/135	1/135	19/135	11/135	11/135

5. 3. 4. Achados microscópicas

Os achados microscópicos observados nas lâminas histológicas incluem: presença de granulócitos em baço e em bolsa cloacal (figura 30), hiperplasia de enterócitos e células caliciformes em duodeno (figura 31), íleo, ceco e degeneração lipídica em fígado de pintinhos (figura 32).

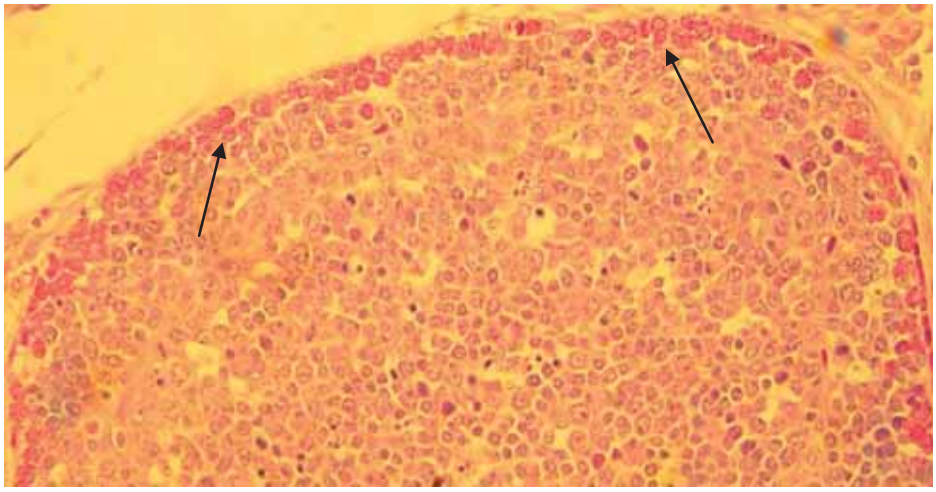


Figura 30: Fotomicrografia de bolsa cloacal de pintinhos com 15 dias de idade, infectados com *S*. Tennessee, com granulócitos (seta). HE, obj. 10x. .(Foto: Arquivo pessoal).

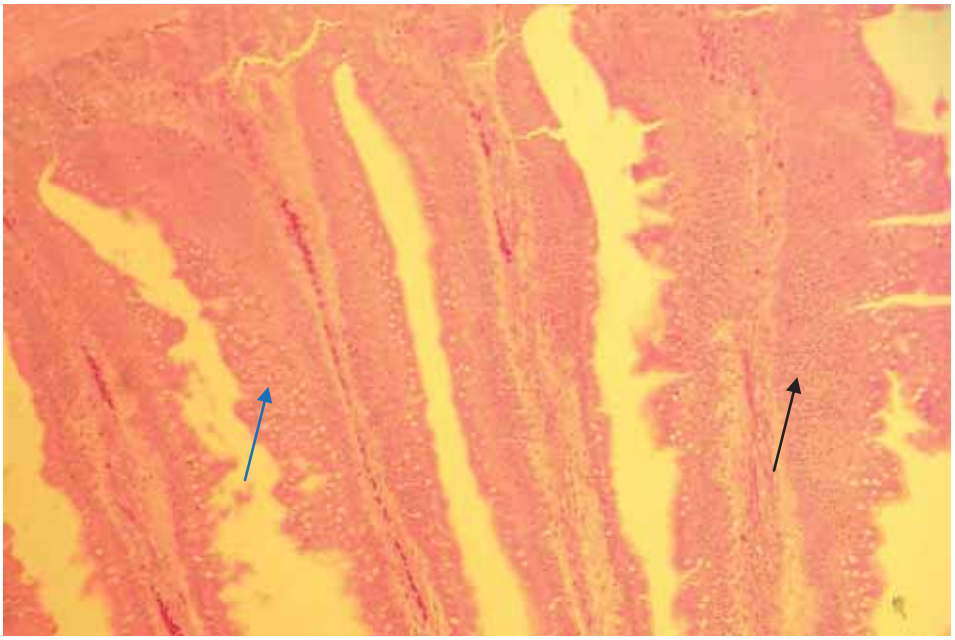


Figura 31: Fotomicrografia de duodeno de pintinhos com 15 dias de idade, infectados com *S*. Typhimurium, com hiperplasia de enterócitos (seta preta) e células caliciformes (seta azul). HE, obj. 4x.(Foto: Arquivo pessoal).

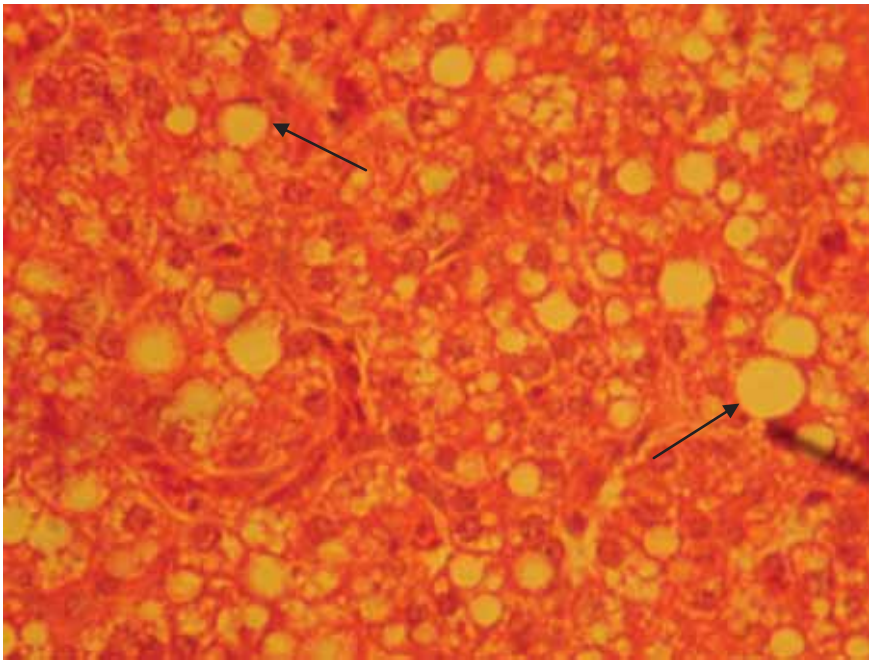


Figura 32: Fotomicrografia de fígado de pintinhos com 15 dias de idade, infectados com *S*. Typhimurium, com degeneração lipídica (seta). HE, obj. 10x. (Foto: Arquivo pessoal).

6. DISCUSSÃO

Para a indústria avícola brasileira, que se encontra em franca expansão, continuar mantendo esses níveis de produção, há a exigência da prevenção de diversas doenças, inclusive da salmonelose aviária. As perdas econômicas determinadas por esta doença podem ocorrer em todas as fases da produção avícola, desde a criação das aves até a comercialização, além de representar um importante risco para a saúde publica.

As medidas de biosseguridade têm a função de evitar a presença de agentes patogênicos na produção avícola. Quando não são adequadamente realizadas, principalmente, em plantéis de frangos de corte, é freqüente verificar *Salmonella* spp., impossibilitando a exportação dos subprodutos dessa granja.

Em diversas espécies animais, incluindo as aves domésticas, a grande quantidade e variedade de bactérias, dentre elas, diferentes sorotipos de *Salmonella*, existentes no sistema gastrintestinal, é considerado um achado comum (LEE, 1985). O sistema atual de criação intensiva adotado na avicultura industrial favorece a propagação de bactérias por meio das fezes. Na literatura mundial é relatada a ocorrência de diversos sorotipos de *Salmonella* em várias espécies de aves selvagens (HOFER et al., 1997; SANDER et al., 2001; KIMPE et al., 2002; REFSUM et al., 2003; WARD et al., 2003; SOUSA et al., 2010a; SOUSA et al., 2010b)

A quantidade de aves selvagens observadas e capturadas nos galpões foi maior durante a época quente (primavera-verão), quando foram capturados 28 animais, do que na época do frio, quando foram apenas oito aves. A maior freqüência de aves no período quente talvez pudesse ser associada ao período reprodutivo. A captura das aves nos galpões vazios foi mais fácil, do que quando ocupados pelos frangos.

As duas espécies aviárias mais capturadas foram o anu preto (*Crotophaga ani*) e a rolinha (*Columbina talpacoti*), possivelmente por serem mais freqüentes no local e por ingerirem em vida livre grãos e insetos (SIGRIST, 2006). Nos galpões essas aves se alimentam de cascudinhos da cama e ração de frango. Na

literatura é descrita a presença de pássaros, corvos e pombos próximos às instalações avícolas (SCHELLING et al., 1999). Além das espécies das aves capturadas, outras, tais como: *Tyrannus savana* (tesourinha), *Ardea alba* (garça branca grande), *Egretta thula* (garça branca pequena), *Bubulcus íbis* (garça vaqueira) e *Coragyps atratus* (urubu), foram vistas nas proximidades da granja.

Todas as aves capturadas foram adultas. Quanto ao sexo das aves, predominaram os machos com 24 (66,67%) aves, seguidos pelas fêmeas com 12 (33,33%) aves. Essa relação talvez seja decorrente da época reprodutiva, quando as fêmeas ficam ocupadas com os ovos ou filhotes no ninho e os machos saem à procura de alimentos. Outro fator para o predomínio de machos capturados, poderia ser a sua exposição ambiental durante seu comportamento de defesa territorial, também observado em quero-queros adultos (COSTA, 2002).

Em relação ao exame clínico, todas as aves avaliadas foram assintomáticas inclusive uma ave, da qual foi isolado *Salmonella* Heidelberg nas vísceras e no conteúdo intestinal, sugerindo que esse agente talvez não seja patogênico para a espécie da ave em questão. Dados semelhantes constam na literatura, onde Sousa et al, (2010a) isolaram *Salmonella* spp. tanto de pombas assintomáticos, como de outras com sintomas inespecíficos.

Nesse experimento foram testadas pela técnica de SAR-SP 36 soros para a presença de anticorpo anti-*Salmonella,* sendo todas as amostras positivas. Esse fato indica que as aves tiveram contato com *S*. Pullorum ou ocorreu uma possível reação cruzada com outros sorotipos pertencentes ao sorogrupo D (BERCHIERI JUNIOR & FREITAS NETO, 2009). Por outro lado, em um levantamento de 133 amostras de soro de pombos domésticos (*Columba livia*), utilizando a técnica SAR-SP, apenas uma amostra foi positiva (CARRASCO et al., 2011). De acordo com as orientações do MAPA (PNSA), aves reagentes em testes sorológicos (ELISA e SAR) devem ser submetidas a exames bacteriológicos para confirmação do resultado sorológico.

A partir das amostras de suabe de cloaca, de órgãos e de conteúdo intestinal das 36 aves selvagens capturadas, o isolamento de *Salmonella* Heidelberg ocorreu apenas dos órgãos e do conteúdo intestinal de um pica-pau do

campo (*Colaptes campestris*), não sendo isolado do suabe de cloaca. Como foi realizado apenas uma colheita de suabe de cloaca, pode ocorrer a ausência do agente, lembrando o comportamneto de eliminação intermitenete observado na Salmonella. semelhante ao descrito para aves de postura comercial (KOTTWITZ et al., 2008). Toro et al. (1999) isolaram *Salmonella* spp. em 3% de pombos domésticos avaliados em Santiago do Chile. GOPEE et al. (2000) encontraram a mesma positividade em diversas espécies de aves selvagens analisadas em Trinidad e, SOUSA et al. (2010b) detectaram em 3,1% das aves selvagens brasileiras a presença de *Salmonella* spp. Por outro lado, BRITTINGHAM et al. (1988) ao avaliarem 364 passeriformes e pica-paus saudáveis em Wisconsin nos EUA não houve isolamento de *Salmonella* spp.

Salmonella Heidelberg foi descrita em gaivotas (SNOEYENBOS et al., 1967; FENLON,1981), em aves exóticas cativas no Jardim Zoológico de Lisboa e Parque Ecológico de Monsanto (GOMES et al., 2002), e em patos e codornas (MCCREA et al., 2006). HOFER et al. (1997) isolaram diversos sorotipos de *Salmonella* dentre eles, *S.* Heidelberg de frangos, perus, patos, marrecos, codornas, pombos e pássaros silvestres, provenientes de diversas regiões do país.

O isolamento de *S.* Heidelberg em um pica-pau-do-campo desse experimento pode ser explicado de diversas maneiras. Como o atual estudo comprova a existência de *Salmonella* spp. nas instalações avícolas (cama aviária, água, fezes de frango, cascudinhos), as aves selvagens ao freqüentarem esses ambientes podem se infectar. Considerando que ZANCAN et al, (2000), relataram esse sorotipo em amostras de caixa de transporte de pintos de um dia, as aves comerciais representariam uma fonte de infecção para a avifauna selvagem local, que uma vez infectadas podem disseminar o agente etiológico tanto para outras espécies em vida livre, como nas próprias instalações da granja (ração, água, cama aviária), principalmente quando é feito a reutilização da cama aviária sem tratamento adequado. Seria de interesse científico a verificação de semelhanças entre o mesmo sorotipo (*S*. Heidelberg) isolado de aves selvagem e aves de produção/instalação avícola, utilizando a técnica de fagotipagem.

Nos exames anatomopatológicos e histopatológicos da ave selvagem positiva não foram encontradas alterações típicas da doença, como às descritas na literatura (JOPPERT, 2007).

Quanto ao isolamento da bactéria nessa pesquisa à partir de amostras de água do abastecimento de bebedouros de frangos de corte, foram isolados dois (8%) sorotipos de *Salmonella* (*S.* Glostrup e *S. enterica* subsp. *enterica* sorotipo 6,8:d:-). SOUZA et al. (1992) também relataram o isolamento do sorotipo Glostrup de água em 6,7% de bebedouros de animais domésticos analisados. A *S. enterica* subsp. *enterica* sorotipo 6,8:d:- que foi isolada de água nessa pesquisa, pertence ao sorogrupo O:8 (GRIMONT & WEILL, 2007). Outra *Salmonella* do mesmo sorogrupo (*S. enterica* subsp. *enterica* sorotipo 6,8:r:-) foi isolada por HOFER et al. (1998) em uma (0,04%) amostra de matérias-primas e de ração para aves no Brasil.

A presença de *Salmonella* Tennessee em 4% dos cascudinhos (*Alphitobius diaperinus*) encontrados em camas aviárias dentro dos galpões pesquisados corrobora os achados de HAREIN et al. (1970), que isolaram *S.* Heidelberg, *S.* Whorthington, *S*. SantPaul, *S*. Thyphimurium e *S.* Mbandaka desses insetos. Na Dinamarca, HALD et al. (1998) isolaram *Salmonella* Infantis em 45% dos cascudinhos colhidos durante o período do vazio sanitário, sugerindo que o novo lote de aves poderão-se contaminar ao utilizar a cama aviária contendo os insetos. JENSEN et al. (2006) observaram que a eliminação da bactéria dos plantéis somente foi possível após a eliminação do coleóptero, indicando a correlação entre *Salmonella* Typhimurium e a presença de *Alphitobius diaperinus*. SKOV et al. (2004) descreveram *Alphitobius diaperinus* como vetor de *Salmonella* numa granja, onde isolaram *S.* Tennessee de frangos de corte e de cascudinhos simultaneamente. LEFFER et al. (2010) ao fornecerem para frangos de corte as larvas e adultos de *Alphitobius diaperinus* infectados com *Salmonella* Enteritidis comprovaram que, as aves que ingeriram as larvas foram mais infectadas, do que aquelas que comeram os insetos adultos. O isolamento de *Salmonella* Tennessee a partir dos cascudinhos no presente trabalho pode ter sua origem nas fezes de frango, de onde foi isolado o mesmo sorotipo.

Nessa pesquisa foi isolada *Salmonella* em 11,1% das amostras de fezes frescas de frangos e pintos de corte. Em comparação MORRIS et al. (1969) encontraram uma freqüência de 83%. Quanto aos sorotipos *Salmonella* Heidelberg também foi isolado por MORRIS et al. (1969). O isolamento de *Salmonella* Tennessee concomitantemente nas fezes e nos cascudinhos condiz com os achados de SKOV et al. (2004). O sorotipo (*Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorotipo 6,7:R:-) isolado nessa pesquisa também foi descrito por HOFER et al. (1997) em aves selvagens e de produção no Brasil, porém como sendo um achado acidental ou raro. HOFER et al. (1998) isolaram esse mesmo sorotipo em amostras proveniente de matérias-primas e de ração para aves de produção. A *S. enterica* subsp. *enterica* sorotipo 4,5,12:R:- isolada de fezes nessa pesquisa, pertence ao sorogrupo O:4 (GRIMONT & WEILL, 2007). Outra *Salmonella* do mesmo sorogrupo (*S. enterica* subsp. *enterica* sorotipo 4,5,12:-) foi isolada por SANTOS et al. (2000) de carcaças de frangos congeladas. Ainda dentro do mesmo sorogrupo FERNANDES et al. (2006) relataram a *S*. *enterica* subsp. *enterica* sorotipo 4,5,12:i:- sendo um dos mais freqüentes isolados de fezes de crianças de 1 a 4 anos de idade.

A *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorotipo 4,5,12:R:- foi isolada tanto de fezes de frangos como da cama aviária, sugerindo que aves contaminadas disseminaram o agente na cama, ou a cama ao ser reutilizada já estava contaminada e infectou um novo lote de aves.

Das amostras de cama aviária em 6,4% foi isolado *Salmonella*, sendo três sorotipos diferentes: *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorotipo 4,5,12:R:- ; *Salmonella* Heidelberg e *Salmonella* Infantis. Comparativamente ANDREATTI FILHO et al. (2001) encontraram uma prevalência menor de 1,36% quando isolaram *S*. Mbandaka em amostras de cama aviária. Por outro lado no Canadá BHATIA *et al.* (1979) encontraram 17,1%, 22,8% e 24% de amostras positivas para *Salmonella* na cama nova colhida antes do alojamento das aves, cama colhida aos cinco dias de criação e na cama colhida às seis semanas de criação, respectivamente, mostrando que o grau de contaminação é diretamente relacionado com o tempo de utilização. Dentre os sorotipos isolados estavam, *S*.

Infantis, *S*. Bredeney, *S*. Havana, *S.* Johannesburg, *S.* Montevideo e *S.* Drypool. Na literatura são encontrados diversos estudos que comparam a qualidade microbiológica de camas aviárias novas e reutilizadas e seus efeitos na qualidade final da produção de frangos de corte. Assim FANELI et al. (1970) constataram que *Salmonella infantis* e *Salmonella Typhimurium*, apresentam menor persistência em cama reutilizada em comparação à cama nova, sugerindo que, as camas reutilizadas têm efeito inibitório na *Salmonella* spp. JONES & HAGER (1982) compararam cama nova e cama reutilizada na criação de frangos e não constataram diferenças significativas no peso corporal, na conversão alimentar e no número de condenações. Segundo JORGE (1990), a cama reutilizada não foi prejudicial às aves, evidenciando propriedades benéficas para os plantéis, pois os lotes apresentaram poucos problemas sanitários e menor mortalidade. Além disso, os índices zootécnicos de produtividade, em muitos casos, foram semelhantes ou superiores aos observados nos lotes criados em cama nova.

Nessa pesquisa, foi isolado *Salmonella* de 26,7% das amostras de fezes de suínos criados próximos aos galpões de frangos de corte, dentro da mesma granja. Os sorotipos isolados foram *S.* Panama e *S.* Typhimurium, semelhante ao descrito por SCHWARZ et al. (2009), que consideraram esses sorotipos os mais prevalentes. O sorotipo Typhimurium foi isolado de suínos criados no sistema intensivo (WEISS et al., 2002), em suínos de terminação e em amostras de ração desses animais (MICHAEL et al., 2002). MASSON et al. (2010) relataram que a *Salmonella* Panama é um importante agente patogênico para os suínos. Convém lembrar da possível transmissão do patógeno dos suínos para os seres humanos e também para as aves, principalmente quando o manejo dos diferentes animais é realizado pelo mesmo funcionário.

Apesar do freqüente relato de *Salmonella* em rações e matérias-primas (BERCHIERI JUNIOR et al., 1984; GIRÃO et al., 1985; HOFER et al., 1998) nesse trabalho não foi isolado o agente da ração das aves. Da mesma forma ZANCAN *et al.* (2000) e ROCHA et al. (2003) relataram o isolamento de *Salmonella* spp. em caixas de transporte de aves recém nascidas, fato que nesse experimento também não foi verificado. Finalmente contrário da literatura (BERCHIERI JUNIOR

et al., 1989) nesse estudo não foi isolado *Salmonella* spp. das amostras de fezes de roedores.

Quanto à infecção experimental, o único sinal clínico observado foram as fezes moles no chão das gaiolas e ao redor da cloaca das aves, entre o 3° dpi e 12° dpi. Esses achados são semelhantes com os encontrados por ANDRADE et al. (2009). Em pesquisas semelhantes utilizando *S*. Pullorum (PINHEIRO et al., 2001) e *S.* Kottbus (RIBEIRO et al., 2005) não foram observados sinais clínicos. Segundo BARROW (2000) nem sempre a presença da *Salmonella* está associada a enterite em aves infectadasporém o acúmulo de excretas na região pericloacal caracteriza uma disfunção intestinal.

Durante a fase experimental, no 1°dpi apenas duas aves infectadas com S. Panama foram negativas na cultura do suabe de cloaca, sendo positivas no 8º dpi. No 8º dpi apenas uma ave infectada com S. Tennessee (positiva no 1º dpi) foi negativa na cultura de suabe de cloca. No 15º dpi todas as amostras foram positivas. As variações nos resultados de cultura de suabe nas aves infectadas podem ser explicadas, nas aves, devido a eliminação intermitente do agente (KOTTWITZ et al., 2008). Até o final do experimento (21º dpi) todas as aves continuavam eliminando o agente, concordando com OLIVEIRA et al. (2005) e RIBEIRO et al. (2005) que relataram excreção fecal de *Salmonella* spp. por tempo prolongado.

Nos 15º e 21º dpi quando a primeira e segunda metade das aves, respectivamente, foram abatidas o agente foi isolado do fígado e do baço e de 100% das amostras do ceco, sendo assim podemos afirmar que esses sorotipos usados nas infecções experimentais são paratifóides. Dados semelhantes foram descritos por GAST & HOLT (1998), que isolaram *S*. Enteritidis de fígado e baço no 7º dpi e no ceco até 24 semanas pós-infecção. O isolamento a partir do fígado e do baço sugere que o agente inoculado via oral, passou para circulação sanguínea para se instalar nos órgãos. Estudos realizados com sorotipos virulentos (*S.* Typhimurium) sugerem que a bactéria após a invasão no intestino se multiplica no fígado e baço e em seguida se disseminam para outros órgãos, produzindo uma infecção sistêmica (BARROW et al., 1987).

Durante a necropsia dos pintos nesse experimento, foram observadas alterações macroscópicas inespecíficas, tais como: fígado de coloração vermelho claro e com áreas esbranquiçadas, esplenomegalia e petéquias em músculos da coxa e do peito, principalmente em aves infectadas com sorotipos *S.* Tennessee, *S.* Panamá, *S.* Glostrup, *S.* Infantis. Quanto às alterações microscópicas nas aves infectadas, observou-se granulócitos em baço e bolsa cloacal e hiperplasia de enterócitos e células caliciformes em duodeno, íleo e ceco. Esses achados não são específicos para infecção por *Salmonella* spp., mas podem estar correlacionados. ANDRADE et al. (2009) ao pesquisarem os aspectos clínicos e anatomo-histopatológicos de pintos de corte oriundos de ovos inoculados experimentalmente com *S*. Enteritidis, observaram durante a necropsia: onfalite, peritonite, tiflite, exsudato viscoso de cor amarelada no ceco e duodeno e congestão hepática. Ainda no mesmo estudo, esses autores relataram a presença de processo inflamatório com infiltrados de células mononucleares com predominância de macrófagos e linfócitos em duodeno, jejuno, íleo e cecos.

Como no presente estudo não foi observado nos pintinhos lesão muito relevante associada à infecção experimental com diversos sorotipos de *Salmonella*, sugere-se que os sorotipos inoculados são de baixa patogenicidade para essas aves. O trabalho revelou que na propriedade estudada instalação avícola estudada ocorre interação direta entre a avifauna selvagem, os frangos de corte e as instalações avícolas, permitindo a transmissão de agentes etiológicos entre eles. Dessa maneira as aves selvagens poderiam carrear agentes para as aves de produção, assim como as aves selvagens se infectariam nas instalações avícolas e disseminariam o agente para outras espécies de aves susceptíveis, ameaçando a população de vida livre. Baseado nas hipóteses acima, pesquisas futuras nesse sentido seriam imprescindíveis.

7. CONCLUSÕES

O isolamento do agente nas instalações avícolas e suinícolas comprovam que existe uma contaminação dentro da granja.

O achado de *Salmonella* spp. em aves selvagens comprova que essas aves albergam e eliminam esse agente.

As infecções experimentais comprovaram a baixa patogenicidade dos sorotipos frente às aves infectadas.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, M. A.; MESQUITA, A. J.; STRINGHINI, J. H.; BRITO, L. A. B.; CHAVES, L. S.; MATTOS, M. S. Aspectos clínicos e anatomo-histopatológicos de pintos de corte oriundos de ovos inoculados experimentalmente com *Salmonella* Enteritidis fagotipo 4. **Ciência Animal Brasileira**. v. 10, n. 3, p. 909-917, 2009.

ANDREATTI FILHO, R. L.; FERNANDES, S. A.; BORETTI, L. P.; BARROS, M. R.; DEL BEM, S. R.; FONTANA, A.; SAMPAIO, H. M.; SAVANO, E. N. Sorovares de *Salmonella* isolados de materiais avícolas no período de 1994 a 1999. **Revista de Educação Continuada**. v. 4. p. 90-101, 2001.

ÁVILA, F.A.; SILVA, E.N.; FERREIRA, M.D. Isolamento e identificação de *Salmonella* em cama de aviário nos arredores de Belo Horizonte. **Arquivo Escola Veterinária**. v. 24, n. 3, p. 227-229, 1972.

BACK, A. **Manual de doenças de aves**. Cascavel, 2004. p. 47-130.

BAILEY, J.S. *Salmonella* en avicultura y en productos avícolas. **Avicultura Professional**. v. 11, n. 4, p. 166-172, 1994.

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

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

BARROW, P. A. The paratyphoid salmonellae. **Review Science Technology Office International Epizootic**. v. 19, n. 2, p. 351-375, 2000.

BARROW, P. A.; HUGGINS, M. B.; LOVELL, M. A.; SIMPSON, J. M. Observations on the pathogenesis of experimental *Salmonella* Typhimurium infection in chickens. **Veterinary Science.** v. 42, p. 194-199, 1987.

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

BATTISTI, A.; GUARDO, G.; AGRIMI, U.; BOZZANO, A. I. Embryonic and neonatal mortality from salmonellosis in captive bred raptors. **Journal of Wildlife Diseases.** v. 34, n. 1, p. 64-72, 1998.

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

BERCHIERI JUNIOR, A; BARROW, P. A. (1995). Patologia e métodos de diagnósticos de SE em aves. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA, 1995. Curitiba. **Anais...**Curitiba: FACTA, 1995. p. 1-5.

BERCHIERI JUNIOR, A., FERNANDES, S. A., IRINO, K., QUINTANA, J. L., SANTOS, A. J. *Salmonella* in poultry feeds in Brazil. **Revista Microbiologia.** v. 24, n. 1, p. 22-25, 1993.

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

BERCHIERI JUNIOR, A; IRINO, K.; NEME, S. N.; CALZADA, C. R.; FERREIRA, S. A.; PESSÔA, G. V. A. Contaminação por *Salmonella* em farinhas de carne de

origem animal utilizadas no preparo de ração. **Pesquisa Veterinária Brasileira.** v. 4, p. 83-5, 1984.

BHATIA, T.R., McNABB, G.D., WYMAN, H., NAYAR, G.P. *Salmonella* isolation from litter as an indicator of flock infection and carcass contamination. **Avian Diseases.** v. 23, n. 4, p. 838-847, 1979.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Portaria**. Disponível em <http:/www.agricultura.gov.br.> Acesso em: 13 de março de 2004.

BRASIL. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis**.** IBAMA, portaria nº 36, março, 2002. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, março, 2003. p. 129. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/fauna/legislacao/port_36_02.pdf>. Acesso em: 20 jan. 2007a.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, Brasília, DF. Plano Nacional de Sanidade Avícola - PNSA, 1994. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, março, 2003. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/portal/page?_pageid=33,981919&_dad=portal&_schema =PORTAL>. Acesso em: 20 jan. 2007b.

BRITTINGHAM, M. C.; TEMPLE, S. A.; DUNCAN, R. M. A survey of the prevalence of selected bacteria in wild birds. **Journal Wildlife Diseases.** v. 24, p. 299-307, 1988.

BUCHALA, F. G.; ISHIZUKA, M. M.; MATHIAS, L. A.; BERCHIERI JÚNIOR, A.; CASTRO, A. G. M.; CARDOSO, A. L. S. P.; TESSARI, E. N. C.; KANASHIRO, A. M. I. Ocorrência de reação sorológica contra *Salmonella* Pullorum em aves de

"fundo de quintal" do Estado de São Paulo, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo.** v. 73, n. 1, p. 1-5, 2006.

CARRASCO, A. O. T.; ISSAKOWICZ, J. C.; MORAIS, M. T. G. F.; FATORETTO, L. A.; PANDOLFI, J. R. C.; SILVA, L. C.; PINTO, A. A. Levantamento sorológico de *Mycoplasma* spp., *Salmonella* sp. e Doença de Newcastle em pombos domésticos (*Columba livia*) de vida livre. **UNOPAR Científica.** v. 13, n. 1, p. 23-27, 2011.

CDC. Vital Signs: Incidence and Trends of Infection with Pathogens Transmitted Commonly Through Food --- Foodborne Diseases Active Surveillance Network, 10 U.S. Sites, 1996-2010. **Weekly**, v.60,n.22, p.749-755, 2012. Disponível em: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6022a5.htm?s_cid=mm6022a5_w> Acesso em: 15 de fevereiro 2012.

CORREA, W. M.; CORREA, C. M. Paratifos em geral. In: ____. **Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos**. 2 ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 1992. p. 167-74.

COSTA, L. C. M. O comportamento interespecífico de defesa do quero-quero, *Vanellus chilensis* (Molina, 1782) (Charadriiformes, Charadriidae). **Revista de Etologia**. v. 4, n. 2, p. 95-108, 2002.

CRUMP, J. A.; GRIFFIN, P. M.; ANGULO F. J. Bacterial contamination of animal feed and its relationship to human foodborne illness**. Clinical Infectious Diseases.** v. 35, n. 7, p. 859-865, 2002.

D'ALOIA, M.; BAILEY, T. A.; SAMOUR, J. H.; NALDO, J.; HOWLETT, J. C. Bacterial flora of captive houbara (*Chlamydotis undulata*), kori (*Ardeotis kori*) and rufous-crested (*Eupodotis ruficrista*) bustards. **Avian Pathology**. v. 25, p. 459-468, 1996.

DAVIES, R.H., NICHOLAS, R.A., McLAREN, I.M., CORKISH, J.D., LANNING, D.G., WRAY, C. Bacteriological and serological investigation of persistent 41. *Salmonella enteritidis* infection in an integrated poultry organisation. **Veterinary Microbiology.** v. 58, n. 2-4, p. 277-293, 1997.

DAVIES, R. H.; WRAY, C. Persistence of *Salmonella* Enteritidis in poultry units and poultry food. **British Poultry Science.** v. 37, p. 589-96, 1996.

EISSEN, J.; VAN DER HEIJDEN, M. Controlling *Salmonella* via the drinking water. **World Poultry.** v. 26, n. 1, p. 12-14, 2010.

FANELLI, M. J.; SASLER, W. W.; BROWNELL, J. R. Preliminary studies on persistence of salmonellae in poultry litter. **Avian Diseases.** v. 14, n. 1, p.131-141, 1970.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2010. Disponível na internet <http://www.fao.org>. Acesso em 10/12/2010.

FENLON, D. R. Seagulls (*Larus* spp.) as vectors of salmonellae – an investigation into the range of serotypes and numbers of salmonellae in gull faeces. **Journal of Hygiene**. v. 86, p. 195-202, 1981**.**

FERNANDES, A. C.; BERCHIERI JÚNIOR A.; OLIVEIRA, G. H.; PEREIRA, G. T. Avaliação de meios de cultivo para o isolamento de *Salmonella.* **ARS Veterinária.** v. 20, n. 3, p. 330-337, 2004.

FERNANDES, S. A.; TAVECCHIO, A. T.; GHILIARDI, A. C.; DIAS, A. M.; ALMEIDA, I. A.; MELO, L. C. *Salmonella* sorovares isolated from humans in São Paulo State, Brazil, 1996-2003*.* **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.** v. 48, n. 4, p. 179-184, 2006.

FREITAS, M. A. Q.; SANTOS, J. A.; PIRES, A. R.; NASCIMENTO, E. Infecção por *Salmonella* Typhimurium de origem hídrica em garça gigante (*Casmerodius albus egretta*) em sua vida livre no Estado do Rio de Janeiro. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 11, n. 5, p. 161-166, 1977.

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

FROYMAN, R.; STEPHAN, B.; DAY, C. Epidemiology of paratyphoid salmonellosis in a large broiler integration and the impact of the application of a normal avian gut flora at day-old. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM SALMONELLA AND SALMONELLOSIS, Ploufragan. Anais.... Ploufragan, p.12-13, 1997.

GALLETTI, M. C. M.; RIBEIRO, S. A. M.; REIS, E. M. F.; DORETTO JR., L.; ORSI, M. A. Isolamento de *Salmonella enterica* subsp *enterica* serovar Kottbus em aves importadas. **Brazilian Journal of Poultry Science.** Suplemento. p. 87, 1999.

GAMA, N. M. S. Q.; BERCHIERI JUNIOR, A.; FERNANDES, S. A. Occurrence of *Salmonella* sp. in laying hens. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**. v. 5, n. 1, p. 15-21, 2003.

GAST, R. K; BEARD, C. W. Age-related changes in the persistence and pathogenicity of *Salmonella* Typhimurium in chicks. **Poultry Science.** v. 68, n. 11, p. 1454-1460, 1989.

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

GAST, R. K, SHIVAPRASAD, H. L., BARROW, P. A. *Salmonella* Infections. In: SAIF, Y. M., FADLY, A. M., GLISSON, J. R., McDOUGALD, L. R., NOLAN, L. K., SWAYNE, D. E. (ed), **Diseases of Poultry**. 12.ed. Blackwell Publishing, 2008. p. 619-674.

GERLACH, H. Bacteria. In: RITCHIE, B. W; HARRISON, G. J.; HARRISON, L. R. **Avian medicine:** Principles and Application. Florida: Wingers Publishing. 1994. p.862-956.

GIRÃO, F. G. F., NOGUEIRA, R. H. G., OLIVEIRA, R. L., FERREIRA, H. B. C. Isolamento de *Salmonella* em matérias-primas, rações e materiais colhidos de aves com problemas sanitários. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.** v. 37, n. 3, p. 249-256, 1985.

GOMES, N. M. V.; BERNARDO, F. M. A.; FERREIRA, M. L.; VIDAL, R.; ROSINHA, R.; MACHADO, J. Marcadores epidemiológicos de *Salmonella* em aves exóticas. Proceedings of the Veterinary Sciences Congress. Oeiras. p. 433, 2002.

GOPEE, N. V.; ADESIYUN, A. A.; CAESAR, K. Retrospective and longitudinal study of Salmonellosis in captive wildlife in Trinidad. **Journal of Wildlife Diseases**. v. 36, n. 2, p. 284-293, 2000.

GRIMONT, P. A. D.; WEILL, F. X. Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars. Who Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*. Paris, France. 9th edition, 167 p., 2007.

GUARD-PETTER, J.; HENZLER, D. J.; MAHBUBUR RAHMAN, M; CALSON, R. W. On-farm monitoring of mousse-invasive *Salmonella enterica* serovar Enteritidis and a model for its association with the production of contaminated eggs. **Applied and environment at Microbiology.** v. 63, p. 1588-93, 1997.

HALD, B.; OLSEN, A.; MADSEN, M. *Typhaea stercorea* (Coleoptera: Mycetophagidae), a carrier of *Salmonella enterica* serovar Infantis in a Danish Broiler House. **Journal of Economic Entomology**. v. 91, n. 3, p. 660-664, 1998.

HAREIN, P. K.; DE LAS CASAS, E.; POMEROY, B. S.; YORK, M. D. *Salmonella* spp. and sorotypes of *Escherichia coli* isolated from the lesser mealworm collected in poultry brooder houses. **Journal of Economic Entomology.** v. 63, n. 1, p. 80-82, 1970.

HELM, J. D.; HINES, R. K.; HILL, J. E.; CAVER, J. A. Multiple drug-resistant *Salmonella* typhimurium DT104 and DT104b isolated in bobwhite quail (*Colinus virginianus*). **Avian Diseases**. v. 43, p. 788-791, 1999.

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

HILTON, A. C.; WILLIS, R. J.; HICKIE, S. J. Isolation of *Salmonella* from urban wild brown rats (*Rattus norvegicus*) in the West Midlands, UK. **International Journal of Environmental Health Research.** v. 12, n. 2, p. 163-168, 2002.

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

HOFER, E.; SILVA FILHO, S. J.; REIS, E. M. F. Sorovares de *Salmonella* isolados de matérias-primas e de ração para aves no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira.** v. 18, n. 1, p. 21-27, 1998.

HUBÁLEK, Z. An annotated checklist of pathogenic microorganisms associated with migratory birds. **Journal of Wildlife Diseases**. v. 40, n. 4, p. 639-659, 2004.

JENSEN, A. N.; DALSGAARD, A.; STOCKMARR, A.; NIELSEN, E. M.; BAGGESEN, D. L. Survival and Transmission of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium in an Outdoor Organic Pig Farming Environment. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 72, n. 3, p. 1833–1842, 2006.

JONES, F. T.; HAGER, W. M. Observations on new and reused litter for growing broilers. **Poultry Science.** v. 62, n. 3, p.175-79, 1982.

JOPPERT, A. M. 2007. *Estudo prospectivo das causas de morte de falconiformes e strigiformes de vida livre no município de São Paulo*. 238f. (Tese de doutorado). Universidade de São Paulo, Brasil.

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

KIMPE, A.; DECOSTERE, A.; MARTEL, A.; HAESEBROUCK, F.; DEVRIESE, L. A. Prevalence of antimicrobial resistance among pigeon isolates of *Streptococcus gallolyticus*, *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* serotype Typhimurium. **Avian Pathology**. v. 31, p. 393-397, 2002.

KOPANIC, R. J.; SHELDON JÚNIOR, B. W.; WRIGHT, C. G. Cockroaches as vectors of *Salmonella*: laboratory and field trials. **Journal of Food Protection.** v. 57, n. 2, p. 125-132 , 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.** v. 60, n. 2, p. 496-498, 2008.

LEE, A. Neglected niches. The microbial ecology of the gastrointestinal tract. **Advances Microbial in Ecology**. v. 8, p. 115-162, 1985.

LEFFER, A. M.; KUTTEL, J.; MARTINS, L. M.; PEDROSO, A. C.; ASTOLFI-FERREIRA, C. S.; FERREIRA, F.; FERREIRA, A. J. P. Vectorial Competence of Larvae and Adults of *Alphitobius diaperinus* in the Transmission of *Salmonella* Enteritidis in Poultry. **Vector-Borne and Zoonotic Disease**. v. 10, n. 5, p. 481-487, 2010.

LEMOS, M.; SILVA, G. M.; FEDULLO, L. P. L.; PEREIRA, V. L. A. *Salmonella* em aves silvestres no jardim Zoológico do Rio de Janeiro, RJ. **Brazilian Journal of Veterinary Science**. v. 6, n. 1, p. 40-43, 1999.

LIEBANA, E.; GARCIA-MIGURA, L.; CLOUTING, C.; CLIFTON-HADLEY, F. A.; BRESLIN, M.; DAVIES, R. H. Molecular Fingerprinting Evidence Of The Contribution of wildlife vectors in the maintenance of *Salmonella* Enteritidis infection in layer farms. **Journal of Applied Microbiology.** v. 94, n. 6, p. 1024, 2003.

LIOW, T. M. Pullorum disease in a black palm cockatoo (*Probosciger aterrimus*). **Singapore Veterinary Journal.** v. 2, p. 37-38, 1978.

LISTER, S.A. *Salmonella enteritidis* infection in broilers and broiler breeders. **Veterinary Record**. v. 123, n. 13, p. 350, 1988.

LITCHFIELD, J. H. *Salmonella* and the food industry: methods for isolation, identification and enumeration. **Critical Reviews in Food Technology.** v. 3, p. 415-456, 1973.

MACIOROWSKI, K. G.; JONES, F. T.; PILLAI, S. D.; RICKE, S. C. Incidence, sources and control of food-borne *SalImonella* sp in poultry feeds. **World´s Poultry Science Journal.** v. 60, n. 4, p. 3, 2004.

MARIETTO-GONÇALVES, G. A.; ALMEIDA, S. M.; LIMA, E. T.; OKAMOTO, A. S.; PINCZOWSKI, P.; ANDREATTI FILHO, R. L. Isolation of *Salmonella enterica*

Serovar Enteritidis in Blue-Fronted Amazon Parrot (*Amazona aestiva*). **Avian Diseases.** v. 54, n. 1, p. 151-155, 2010.

MASSON, G. C. I. H.; CARVALHO, L. F. O. S.; OLIVEIRA, L. G.; IBRAHIM, I. N. A. F. Infecção experimental por *Salmonella* enterica subespécie enterica sorotipo Panama e tentativa de transmissão aérea em leitões desmamados. **ARS Veterinária**. v. 26, n. 3, p. 160-165, 2010.

MCCREA, B. A.; TONOOKA, K. H.; VANWORTH, C.; BOGGS, C. L.; ATWILL, E. R.; SCHRADER, J. S. Prevalence of *Campylobacter* and *Salmonella* species on farm, after transport, and at processing in specialty market poultry. **Poultry Science**. v. 85, p. 136-143, 2006.

MERCHANT, I. A.; PACKER, R. A. **Bacteriologia e virologia veterinárias**. 3 ed. Zaragoza: Acribia, 1980. p. 299-322.

MICHAEL, G. B.; SIMONETI, R.; CARDOSO, M. R. I.; COSTA, M. Sorotipos de *Salmonella* isolados em uma propriedade de suínos de terminação no sul do Brasil. **Ciência Rural**. v. 32, n. 3, p. 525-527, 2002.

MORRIS, G. K.; MCMURRAY, B. L.; GALTON, M. M.; WELLS, J. G. A Study of the dissemination of Salmonellosis in a commercial broiler chicken operation. **American Journal of Veterinary research**. v. 30, n. 8, p. 1413 -1421, 1969.

MUTALIB, A.; MCDONOUGH, P.; SHIN, S.; PATTEN, V.; LEIN, D. *Salmonella* Enteritidis in commercial layer farms in New York state, environmental survey results and significance of available monitoring tests. **Journal Veterinary Diagnostic Investigation.** v. 4, p. 416-418, 1992.

NAKAMURA, M., TAKAGI, M., TAKAHASHI, T., SUZUKI, S., SATO, S., TAKEHARA, K. The effect of the flow of air on horizontal transmission of *Salmonella enteritidis* in chickens. **Avian Diseases.** v. 41, n. 2, p. 354-360, 1997.

NASCIMENTO, V. Evento. **Avisite**. n. 37, p.32-33, 2010.

NASCIMENTO, W.P., SALLE, C.T.P., MORAES, H.L.S., SILVA, A.B., SANTOS, L.R., CARDOSO, M.O., PONTES, A.P., OLIVEIRA, S.D. O controle das *Salmonelas* na cadeia produtiva avícola. In: Simpósio sobre Ambiência, Sanidade e Qualidade da Carcaça de Frangos de Corte, Concórdia, 1997. EMBRAPA-CNPSA. 1997. p. 32-39.

OLIVEIRA, C. J. B.; CARVALHO, L. F. O. S.; FERNANDES, S. A.; TAVECHIO, A. T.; DOMINGUES JR, F. J. Prevalence of pigs infected by *Salmonella* Typhimurium at slaughter after an enterocolitis outbreak. **International Journal of Food Microbiology**. v. 105, p. 267– 271, 2005.

OLIVEIRA, G. H.; BERCHIERI JÚNIOR, A.; MONTASSIER, H. J. Ensaio imunoenzimático (ELISA) para detecção da resposta sorológica contra *Salmonella* entérica sorotipo Enteritidis em aves. **Veterinária Notícias**. v. 12, p. 65-69, 2006.

ORÓS, J.; RODRÍGUEZ, J. L.; FERNÁNDEZ, A.; HERRÁEZ, P.; ESPINOSA DE LOS MONTEROS, A.; JACOBSON, E. R. Simultaneous occurrence of *Salmonella* arizonae in a sulfur crested cockatoo (*Cacatua galerita galerita*) and Iguanas. **Avian Diseases**. v. 42, p. 818-823, 1998.

PALMU, L.; CAMELIN, I. The use of competitive exclusion in broilers to reduce the level of Salmonella contamination on the farm and at the processing plant. **Poultry Science.** v. 76, n. 11, p. 1501-1505, 1997.

PINHEIRO, L. A. S.; OLIVEIRA, G. H.; BERCHIERI JUNIOR, A. Experimental *Salmonella enterica* serovar Pullorum infection in two commercial varieties of laying hens. **Avian Pathology**. v. 30, p. 129-133, 2001.

POPOFF, M. Y.; BOCKEMÜHL, J.; HICKMAN-BRENNER, F. W. Kauffmann-White scheme. **Research in Microbiology.** v. 147 (Supplement.), n. 39, p. 765-769, 1996.

POPPE, C. Epidemiology of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. In: SAEED, A.M.; GAST, R.K.; POTTER, M.E. et al.(Eds.) *Salmonella enterica* serovar Enteritidis in humans and animals. Ames: Iowa State University Press, p.3-18, 1999.

PROUX, K.; HUMBERT, F.; GUITTET, M.; COLIN, P.; BENNEJEAN, G. Vaccination du pigeon contre *Salmonella* Typhimurium. **Avian Pathology**. v. 27, p. 161-167, 1998.

REFSUM, T.; VIKOREN, T.; HANDELAND, K.; KAPPERUD, G.; HOLSTAD, G. Epidemiologic and pathologic aspects of *Salmonella* Typhimurium infection in passerine birds in Norway. **Journal of Wildlife Diseases.** v. 39, n. 1, p. 64-72, 2003.

RIBEIRO, M. G.; FERNANDES, M. C.; PAES, A. C.; SIQUEIRA, A. K.; PINTO, J. P. A. N.; BORGES, A. S. Caracterização de sorotipos em linhagens do gênero *Salmonella* isoladas de diferentes afecções em animais domésticos. **Pesquisa Veterinária Brasileira.** v. 30, n. 2, p. 155-160, 2010.

RIBEIRO, S. A. M.; BERCHIERI JUNIOR, A.; ORSI, M. A.; MENDONÇA, A. O.; FERRATI, A. R. Experimental infection by *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Kottbus in day-old broiler chickens. **Brazilian Journal of Poultry Science**. v. 7, n. 2, p. 107-112, 2005.

RIBEIRO, S. A. M.; ORSI, M. A. Isolamento de Salmonelas de avestruzes importados no período de nov./99 a set/02. **Anais...** ACAB 2002.

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

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

RODRIGUES, D. P. Ecologia e prevalência de Salmonella spp. em aves e material avícola no Brasil. In: CONFERÊNCIA APINCO 2005 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA, Santos. **Anais...** Santos: FACTA, 2005. p. 223-228.

SANDER, J.; HUDSON, C. R.; DUFOUR-ZAVALA, L.; WALTMAN, W. D.; LOBSINGER, C.; THAYER, S. G.; OTALORA, R.; MAURER, J. J. Dynamics of Salmonella contamination in a commercial quail operation. **Avian Diseases**. v. 45, p. 1044-1049, 2001.

SANTOS, D. M. S.; BERCHIERI JUNIOR, A.; FERNANDES, S. A.; TAVECHIO, A. T.; AMARAL, L. A. *Salmonella* em carcaças de frango congeladas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 20, n. 1, p. 39-42, 2000.

SATO, Y.; FUKUI, S.; KURUSU, H.; KITAZAWA, I.; KUWAMOTO, R.; AOYAGI, T. *Salmonella* typhimurium infection in domesticated fowl in a children's Zoo. **Avian Diseases**. v. 43, p. 611-615, 1999.

SCHELLING, E.; THÜR, B.; GRIOT, C.; AUDIGÉ, L. Epidemiological study of Newcastle disease in backyard poultry and wild bird populations in Switzerland. **Avian Pathology**. v. 28, p. 263-272, 1999.

SCHWARZ, P.; CALVEIRA, J.; SELLA, A.; BESSA, M.; BARCELLOS, D. E. S. N.; CARDOSO, M. *Salmonella enterica*: isolamento e soroprevalência em suínos abatidos no Rio Grande do Sul. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 61, n. 5, p. 1028-1034, 2009.

SIGRIST, T. **Aves do Brasil- uma visão artística**. Editora Avis Brasilis, São Paulo. 2. ed., 672 p, 2006.

SILVA, E.N. Mitos e realidade no controle de *Salmonella enteritidis* em matrizes. In: Simpósio Internacional sobre Manejo de Matrizes e Incubação, Campinas, 1997. Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas. 1997. p. 73-86.

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

SKOV, M. N.; SPENCER, A. G.; HALD, B.; PETERSEN, L.; NAUERBY, B.; CARSTENSEN, B.; MADSEN, M. The role of litter beetles as potential reservoir for *Salmonella* enterica and thermophilic *Campylobacter* spp. between broiler flocks. **Avian Diseases**. v. 48, n. 1, p. 9-18, 2004.

SNOEYENBOS, G. H.; MORIN, E. W.; WETHERBEE, D. K. Naturally occurring *Salmonella* in “blackbirds” and gulls. **Avian Diseases**. v. 11, n. 4, p. 642-646, 1967.

SOUSA, E., BERCHIERI JUNIOR, A., PINTO, A. A., MACHADO, R. Z., CARRASCO, A. O. T., MARCIANO, J. A., WERTHER, K. Prevalence of *Salmonella* spp. Antibodies to *Toxoplasma gondii*, and Newcastle disease virus in feral pigeons (*Columba livia*) in the city of Jaboticabal, Brazil. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine.** v. 41, n. 4, p. 603 - 607, 2010a.

SOUSA, E., WERTHER, K., BERCHIERI JUNIOR, A. Assessment of Newcastle and infectious bronchitis pathogens, and Salmonella spp. in wild birds captured near poultry facilities. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 62, n. 1, p. 219 - 223, 2010b.

SOUZA, L. C.; LARIA, S. T.; PAIM, G. V. Salmonelas e coliformes fecais em águas de bebidas para animais. **Revista Saúde Pública**. v. 26, n. 5, p. 321-327, 1992.

STERZO, H.; PAIVA, J. B.; MESQUITA, A. L.; FREITAS NETO, O. C.; BERCHIERI, A. Organic acids and/or compound with defined microorganisms to control *Salmonella enterica* serovar Enteritidis experimental infection in chickens. **Brazilian Journal of Poultry Science.** v. 9, n. 1, p 69-73, 2007.

SWANENBURG, M.; URLINGS, H.A.P.; SNIJDERS, J.M.A.; KEUZENKAMP, D.A.; VAN KNAPEN, F. Salmonella in slaughter pigs: prevalence, serotypes and critical control points during slaughter in two slaughterhouses. **International Journal of Food Microbiology.** v. 70, p. 243-254, 2001.

TAUNAY, A.E.; FERNANDES, S. A.; TAVECHIO, A. T. The role of public health laboratory in the problem of salmonellosis in São Paulo, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo.** v. 2, p. 119-127, 1996.

TIZARD, I. Salmonellosis in wild birds. Proceedings of the Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine. v. 13, n. 2, p. 50-66, 2004.

TORO, H.; SAUCEDO, C.; BORIE, C.; GOUGH, R. E.; ALCAÍNO, H. Health status of free-living pigeons in the city of Santiago. **Avian Pathology.** v. 28, p. 619-623, 1999.

UBA - União Brasileira de Avicultura. Relatório Anual: São Paulo, 2011, 40 p. Disponível na internet <http://www.uba.org.br>. Acesso em 03/01/2011.

VANDEPLAS, S.; DUBOIS DAUPHIN, R.; BECKERS, Y.; THONART, P.; THE´ WIS, A. *Salmonella* in Chicken: Current and Developing Strategies To Reduce Contamination at Farm Level. **Journal of Food Protection.** v. 73, n. 4, p. 774-785, 2010.

VAN IMMERSEEL, F.; METHNER, U.; RYCHLIK, I.; NAGY, B.; VELGE, P.; MARTIN, G.; FOSTER, N.; DUCATELLE, R.; BARROW, P. A. Vaccination and early protection against non-host-specific *Salmonella* serotypes in poultry: exploitation of innate immunity and microbial activity. **Epidemiology and Infection.** v. 133, n. 6, p. 959-978, 2005.

VIGO, G. B.; ORIGLIA, J.; GORNATTI, D. Isolation of *Salmonella* Typhimurium from dead blue and gold macaws (*Ara ararauna*). **Avian Diseases.** v. 53, p. 135-138, 2009.

WARD, M. P.; RAMER, J. C.; PROUDFOOT, J.; GARNER, M. M.; JUAN-SALLES, C.; WU, C. C. Outbreak of salmonellosis in a zoologic collection of lorikeets and lories (Trichoglossus, Lorius, and Eos spp.). **Avian Diseases**. v. 47, n. 2, p. 493-498, 2003.

WEISS, L.H.N.; NONIG, R.B.; CARDOSO, M.; COSTA, M. Ocorrência de Salmonella spp. em suínos de terminação no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira.** v. 22, n. 3, p. 104-108, 2002.

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