

**ESTUDO DA PRESENÇA DE *Salmonella* sp EM
POEDEIRAS SUBMETIDAS A MUDA
FORÇADA**

ELLEN REGINA NOGUEIRA DE SOUZA

2000

Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA

SOUZA, Ellen Regina Nogueira de

Estudo da presença de *Salmonella* sp em poedeiras submetidas a muda forçada
/ Ellen Regina Nogueira de Souza. -- Lavras : UFLA, 2000.

37 p. : il.

Orientador: Eliana Pinheiro de Carvalho.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. *Salmonella* sp. 2. Poedeira. 3. Muda forçada. 4. Ração. 5. Microbiologia. 6. Microbiologia de alimento. 7. Ovo. 8. Avicultura. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-576.163

-589.95

-636.5142

49262

MFN 34579

ELLEN REGINA NOGUEIRA DE SOUZA

**ESTUDO DA PRESENÇA DE *Salmonella* sp EM POEDEIRAS
SUBMETIDAS A MUDA FORÇADA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Microbiologia dos Alimentos, para a obtenção do título de "Mestre".

Orientador

Prof. Eliana Pinheiro de Carvalho

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASI
2000

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

SOUZA, Ellen Regina Nogueira de

Estudo da presença de *Salmonella* sp em poedeiras submetidas a muda forçada
/ Ellen Regina Nogueira de Souza. -- Lavras : UFLA, 2000.

37 p. : il.

Orientador: Eliana Pinheiro de Carvalho.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. *Salmonella* sp. 2. Poedeira. 3. Muda forçada. 4. Ração. 5. Microbiologia. 6.
Microbiologia de alimento. 7. Ovo. 8. Avicultura. I. Universidade Federal de
Lavras. II. Título.

CDD-576.163

-589.95

-636.5142

ELLEN REGINA NOGUEIRA DE SOUZA

**ESTUDO DA PRESENÇA DE *Salmonella* sp EM POEDEIRAS
SUBMETIDAS A MUDA FORÇADA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Microbiologia dos Alimentos, para a obtenção do título de "Mestre".

APROVADA em 15 de março de 2000.

Prof.^a Maria Cristina Bressan UFLA

Prof. Bendito Lemos de Oliveira UFLA


Prof.^a Eliana Pinheiro de Carvalho

UFLA

(Orientador)

Ao meu esposo Álvaro, com carinho,

DEDICO !!!

AGRADECIMENTOS

À professora Eliana Pinheiro de Carvalho pela orientação, amizade e profissionalismo.

Aos professores Benedito Lemos de Oliveira e Maria Cristina Bressan pelas sugestões.

À Flávia, pela colaboração nos trabalhos de laboratório.

Aos funcionários do Laboratório de Microbiologia, Eliane e Sr. Piano pela amizade e convivência.

Aos professores e funcionários do Departamento de Ciência dos Alimentos da UFLA pela convivência.

Aos colegas de curso pela amizade.

Ao Departamento de Bacteriologia da Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ, Rio de Janeiro pela identificação sorológica das cepas.

À FAPEMIG/FIEMG pela concessão da bolsa de estudos.

Ao meu esposo Álvaro pelo apoio, carinho e compreensão nas horas mais difíceis.

Aos meus pais Elias e Marlene, a minha vó Maria e toda a minha família pelo apoio e carinho ao longo de minha vida.

À todos, que de alguma maneira contribuíram para realização deste trabalho.

À Deus pelas numerosas bênçãos e proteção.

“O temor do Senhor é o princípio da sabedoria”

Provérbios 1:7

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
1 INTRODUÇÃO.....	01
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	03
2.1 Etiologia.....	03
2.2 Patogenicidade.....	03
2.3 Isolamento de <i>Salmonella</i> sp nas matérias-primas destinadas à fabricação de rações.....	05
2.4 Efeitos da muda induzida.....	08
2.5 <i>Salmonella enteritidis</i> em ovos.....	11
2.6 O uso de antibióticos.....	14
2.7 Exclusão competitiva.....	15
2.8 Pontos críticos de contaminação.....	15
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	19
3.1 Material.....	19
3.1.1 Farinhas de origem animal e rações.....	19
3.1.2 Material do ovário, intestino e cloaca das poedeiras.....	20
3.1.3 Ovo (gema e casca) das poedeiras.....	20
3.1.4 Fezes das poedeiras.....	20
3.2 Métodos.....	21
3.2.1 Análises microbiológicas.....	21
3.2.2 Isolamento de <i>Salmonella</i>	21
3.2.3 Pré-enriquecimento.....	21
3.2.4 Enriquecimento seletivo.....	21
3.2.5 Plaqueamento seletivo.....	21
3.2.6 Triagem de colônias suspeitas.....	22
3.2.7 Identificação bioquímica.....	22
3.2.8 Identificação sorológica.....	22
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	24
4.1 Análise das farinhas utilizadas no aviário no preparo das rações.....	24
4.2 Análise da presença de <i>Salmonella</i> sp antes e após regime de muda forçada nas poedeiras.....	27
4.3 Avaliação da predominância de <i>Salmonella</i> no período de muda forçada.....	30
5 CONCLUSÕES.....	32
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33

RESUMO

SOUZA, E.R.N. Estudo da presença de *Salmonella* sp em poedeiras submetidas a muda forçada. Lavras: UFLA, 2000. 37p. (Dissertação – Mestrado em Ciência dos Alimentos).

Um estudo epidemiológico sobre a ocorrência de *Salmonella* em poedeiras submetidas a muda forçada foi realizado na Universidade Federal de Lavras, utilizando amostras coletadas em uma granja comercial, objetivando verificar a permanência deste microrganismo na granja. Foram estudadas amostras de farinha de carne, farinha de ostras, ração, cloaca, intestino, ovário, ovos e fezes. Amostras de outras farinhas de carne, farelo de trigo e farelo de soja utilizadas na granja foram também analisadas a fim de verificar possível correlação de sorotipos e contaminação cruzada dentro da granja. Utilizaram-se, como regra geral para as análises microbiológicas, os métodos descritos pela “American Public Health Association” APHA, 1992. Os sorotipos isolados nas amostras antes e após o regime de muda forçada foram: *S. give* (63,6%), *S. cerro* (18,2%) e *S. cubana* (18,2%), nos quais as amostras de fezes foram as que apresentaram um maior número de isolamentos. Nas matérias-primas utilizadas na granja, foram isolados os sorotipos: *S. agona* (43%), *S. cubana* (21%), *S. cerro* (14%), *S. montevideo* (14%) e *S. worthington* (7%), nos quais as amostras de farinha de carne foram as que apresentaram um maior número de isolamentos. Houve correlação entre o sorotipo *S. give* identificado nos alimentos e os encontrados nas aves; não foi verificada a ocorrência de contaminação cruzada.

Comitê Orientador: Dr^a. Eliana Pinheiro de Carvalho – UFLA (Orientadora).

ABSTRACT

SOUZA, E.R.N. Study of the presence of *Salmonella* sp in layers submitted to forced moulting. Lavras: UFLA, 2000. 37p. (Dissertation – Master Program in Food Science)

An epidemiological study on the occurrence of *Salmonella* in layers submitted to forced moulting was performed at the Universidade Federal de Lavras, by utilizing samples collected in a commercial poultry farm, aiming to verify the persistence of that microorganism in the poultry farm. Samples of meat meal, oyster meal, ration, cloaca, intestine, ovary, eggs and faeces were studied. Samples of other meat meal, wheat meal and soybean meal utilized in the poultry farm were also analysed in order to verify a possible correlation of serotypes and cross contamination inside the poultry farm. As a general analyses were utilized the methods reported by the “American Public Health Association” APHA, 1992. The serotypes isolated in the samples before and after the forced moulting regimen were: *S. give* (63,6%), *S. cero* (18,2%) e *S. cubana* (18,2%) where the faeces samples were the ones which presented a greater number of isolations. In the raw matters employed in the poultry farm, the serotypes *S. agona* (43%), *S. cubana* (21%), *S. cerro* (14%), *S. montevideo* (14%) e *S. worthington* (7%), were isolated, where the samples of meat meal were those which presented a greater number of isolations. There was a correlation between the serotype *S. give* identified in the feeds with those found in the birds, no occurrence of cross contamination was found.

Guidance Committee: Dra Eliana Pinheiro de Carvalho – UFLA (Adviser)

1 INTRODUÇÃO

O aumento no número de casos de toxinfecções alimentares e suas conseqüências econômicas têm levado as empresas a adotarem medidas para melhorar a qualidade de seus produtos. Neste contexto, a indústria avícola é a mais afetada, uma vez que as aves podem representar, quando infectadas, fontes potenciais de toxinfecções alimentares ao homem, através do consumo de qualquer derivado avícola que esteja contaminado. Assim, a presença de *Salmonella*, *Clostridium*, *Escherichia coli* ou *Micobacterium* implica num impacto negativo sobre os produtos avícolas.

As medidas gerais de profilaxia, desde à criação dos pintinhos até o processamento final de carcaças e ovos, dificultam, mas não impedem a presença de bactérias nas granjas. Segundo a FAO/OMS, dentre os microrganismos patogênicos, os do gênero *Salmonella* assumem importância relevante, sendo considerada a zoonose mais grave, tendo sido os alimentos de origem animal apontados como a principal fonte de toxinfecções para o homem.

Surtos de toxinfecções alimentares envolvendo a presença de *Salmonella* spp estão associados ao consumo de ovos, maionese e carne de frango. Devido às suas muitas propriedades nutricionais, os ovos são amplamente utilizados no preparo de alimentos, tanto em escala doméstica quanto industrial.

O problema dos ovos contaminados começa na granja de poedeiras, principalmente devido a cascas infectadas por matéria fecal, que acontece no momento da postura, ou logo após, por contato com camas, ninhos, ou mesmo gaiolas contaminadas. Da casca, as bactérias penetram através dos poros e multiplicam-se no interior dos ovos, podendo ou não infectar o embrião, no caso de ovos férteis.

O presente trabalho teve como objetivo geral verificar a ocorrência de salmonelas em poedeiras durante o processo convencional de muda forçada e nos diferentes segmentos desta granja. Especificamente, pretendeu-se:

- Pesquisar a presença de salmonelas em farinha de carne, farinha de ostras, ração, cloaca, intestino, ovário, ovos e fezes
- Pesquisar a presença de salmonelas em matérias-primas de origem animal utilizadas para preparo de rações
- Procurar relacionar os sorotipos das carcaças, dos ovos e fezes com possíveis origens.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Etiologia

O gênero *Salmonella* pertence à família Enterobacteriaceae, e é definido como bacilos medindo 0,7 a 1,5 X 2-5 μm ., gram negativos, geralmente móveis, apresentando flagelos peritríquios, anaeróbios facultativos, não capsulados nem esporulados, produzem H_2S e gás, reduzem nitratos a nitritos. Podem crescer em pH de 4 a 8, temperaturas de 37°C a 47°C e atividade de água acima de 0,94. Atualmente, existem aproximadamente 2300 diferentes sorotipos identificados.

2.2 Patogenicidade

Os alimentos funcionam como veículos de transmissão de vários microrganismos, além de servirem como substrato para sua multiplicação e desenvolvimento.

Entre os microrganismos causadores de gastroenterites, os mais importantes são os representantes do gênero *Salmonella*.

Presume-se que todas as espécies de salmonelas sejam patogênicas para o homem. Os sintomas clínicos podem ser divididos em: febre tifóide, causada pela *S. typhi* e paratífóide, causada pela *S. paratyphi*, sendo a febre tifóide a mais grave, caracterizada por febre de até 40 graus e diminuição no ritmo cardíaco e de leucócitos; e as infecções entéricas ou gastrointestinais e as infecções extra intestinais, causadas por várias espécies de salmonelas.

Em seres humanos, a toxinfecção por salmonelas ocorre através da ingestão de alimentos contaminados, e esta contaminação está diretamente relacionada com higiene inadequada.

Segundo Souza et al. (1999), a elaboração e, ou, manipulação dos alimentos em larga escala possibilita a disseminação de *Salmonella* a partir de

maquinário e, ou, processamento, por higienização inadequada ou resfriamento deficiente

As salmonelas também ocorrem em animais de sangue quente e frio. Vários estudos apontam a existência de salmonelas no trato intestinal de mamíferos domésticos, répteis, insetos e principalmente aves.

Uma parte dos 2300 sorotipos de salmonelas já identificados pode ser isolada de aves, como o caso da *S. pullorum*, causadora da pulorose, e a *S. gallinarum*, causadora do tifo aviário, que apesar de serem sorotipos específicos de aves, podem contaminar outras espécies.

As aves são consideradas os maiores reservatórios individuais de salmonelas existentes na natureza. São mais susceptíveis à colonização por *Salmonella* durante as primeiras semanas de vida, devido à falta de uma microflora intestinal normal.

De acordo com Bailey (1994), raramente ocorre doença clínica em aves com mais de 3 semanas de vida; entretanto, serão em sua grande maioria portadoras, contribuindo para disseminação de salmonelas nos lotes avícolas. É necessário a intervenção do crescimento de *Salmonella* durante o período inicial da criação, pois assim se evita a posterior contaminação de carcaças.

Condições desfavoráveis de criação, assim como doenças, favorecem a colonização por *Salmonella*. Segundo Santos (1998), qualquer doença que determine um quadro imunossupressivo, como gumboro ou micotoxicose, além de doenças concorrentes como a coccidiose, que determinam a falta de integridade intestinal, acabam por aumentar a susceptibilidade à colonização por *Salmonella* sp.

Segundo Bailey (1994), os fatores que afetam a susceptibilidade dos pintos à colonização por *Salmonella* são numerosos. Estes incluem a idade, nível de estresse, saúde da ave, tipo e quantidade de aditivos do alimento e a genética da ave.

Surtos de toxinfecções alimentares humanas envolvendo alimentos cárneos, principalmente aves, produtos de aves e ovos são freqüentes. Lírio et al. (1999) isolaram, no período de 01/92 a 12/96, 140 cepas de *Salmonella* de diversos tipos de alimentos. Nesse trabalho, frango “in natura”(77,1%) e linguiça crua (10%) foram os alimentos que originaram maior número de isolamentos.

Souza (1999) realizaram um trabalho com objetivo de analisar dados epidemiológicos de doença diarreica e febre tifóide e identificar os alimentos implicados em surtos de salmonelose ocorridos no município do Rio de Janeiro. No período entre janeiro de 1993 a 1997, houve 39 notificações de alimentos contaminados por *Salmonella* sp, sendo que 15 ou 35% dos alimentos eram aves; destas, quatro ou 28,6% foram causadores de surtos. Estes mesmos autores realizaram um outro trabalho no Rio de Janeiro, no período de 1993 a 1998, objetivando relacionar os alimentos contaminados por *Salmonella* com o tipo de estabelecimento em que foi produzido e/ ou consumido, e verificaram que houve um maior número de casos relacionados a carnes: bovina, suína e de aves, totalizando 59,1%, sendo que 38,5% eram de aves em suas diversas formas de comercialização.

Baú, Carvalhal e Aleixo (1999) verificaram a prevalência de produtos de frango e ovos de galinha contaminados com salmonelas no período de maio de 1997 a outubro de 1998; dentre as amostras de produtos de frango analisadas, 9,15% continham *Salmonella*.

2.3 Isolamento de *Salmonella* sp nas matérias-primas destinadas à fabricação de rações

A ração é considerada o principal veículo de introdução de salmonelas nos lotes avícolas, devido, principalmente, aos seus componentes de origem animal, como as farinhas de carne, de sangue e de penas, entre outros.

Um dos primeiros estudos de detecção de *Salmonella* em alimentos comercialmente preparados para aves, realizado por Erwin (1955), levou a uma conscientização sobre o papel das rações como disseminadoras de *Salmonella* nos lotes avícolas. Desde então, a ração e a matéria prima utilizada para sua elaboração vem merecendo atenção especial como uma importante fonte de contaminação para os animais.

Um caso de salmonelose bovina relacionada ao consumo de farinha de osso contaminada presente na ração foi relatado por Van Drurmel, Boycott e Broski (1969).

Bischoff (1969) realizou, em 10 anos, análises em 21.242 amostras de farinhas de origem animal importadas de vários países, encontrando 5,2% de isolamentos de salmonelas. Das 23 amostras importadas do Brasil, 7 estavam contaminadas.

Giorgi, Ohashi e Araújo (1971) analisaram 210 amostras de farinha de carne e de peixe, das quais 10 estavam contaminadas por 7 sorotipos diferentes, sendo que a maior contaminação foi encontrada na farinha de carne (6,5%).

Silva et al. (1973) estudaram 103 amostras de matéria prima de origem animal, recebidas por 3 fábricas de ração localizadas em Minas Gerais, provenientes de 22 fontes diferentes, num período de 9 meses. Destas, 14 amostras (13,6%) estavam contaminadas com salmonela, e todas com microrganismos do gênero coli-aerógenes. Os resultados desse trabalho permitiram aos autores concluir que o problema no Brasil deve ser semelhante ao de outros países.

Após o isolamento de salmonelas a partir de amostras de matérias primas e rações, Girão et al. (1983) sugeriram que medidas de controle mais rigorosas, principalmente em planteis de reprodutores, devem ser estabelecidas, considerando a transmissão transovariana como um dos meios mais importantes de propagação e perpetuação das bactérias. Os materiais analisados, farinhas de

carne e de penas, vísceras e restos de incubatório e rações mostraram um percentual de bactérias isoladas igual a 14,9%. A contaminação de matérias-primas e rações foi considerada, pelos autores, como introdutoras de salmonelas nos plantéis. Nesse mesmo estudo, foram examinados fígado, baço, coração e restos de gema, coletados de aves com problemas sanitários, sendo identificados sorotipos comuns, tanto em matrizes de corte como em matrizes poedeiras e frangos de corte, sendo os mais freqüentes *S. gallinarum* e *S. pullorum*.

Devido à escassez de bibliografia nacional referente à prevenção de salmoneloses aviárias, Berchieri Júnior et al. (1984) isolaram e identificaram salmonelas em matérias-primas de rações de origem animal. Foram analisadas amostras de farinha de carne, de penas e vísceras e de ossos autoclavados, oriundas de três diferentes fábricas de ração do estado de São Paulo, das quais 38% das amostras estavam contaminadas com salmonelas.

Em relação à granja avícola comercial, Berchieri Júnior et al. (1989) isolaram 22 sorotipos de salmonelas em amostras de farinha de carne, ração, cama das aves e fezes de rato; 19 desses sorotipos foram encontrados na farinha de carne, o que levou os autores a considerá-la como principal agente de contaminação aos lotes avícolas.

Segundo Nagaraja, Pomeroy e Williams (1991), a contaminação de rações através de sub-produtos de origem animal que as compõem é praticamente um quadro que se mantém nos últimos 20 anos.

Berchieri Júnior et al. (1993) examinaram a presença de salmonelas em ração para aves e encontraram 10% de amostras contaminadas, sugerindo ainda que os resultados negativos não significam propriamente ausência desse patógeno.

Saitanu e Jerngklinchan (1994) realizaram um trabalho na Tailândia, onde foram isoladas salmonelas de ingredientes de rações e de rações de

diferentes estabelecimentos. Das 812 amostras analisadas, 57 estavam contaminadas por salmonela.

Santos (1998), numa avaliação microbiológica de ingredientes e rações, concluiu que as farinhas de carne e ossos contaminadas por *Salmonella* se constituíram na principal fonte de veiculação desse patógeno para as rações.

O uso de rações peletizadas reduz ou elimina as bactérias; porém, o armazenamento dessas rações em locais úmidos, a manipulação posterior e o transporte, podem recontaminá-la. Segundo Gabis (1991), nos processos de fabricação de farinhas, as altas temperaturas destroem as células de salmonelas; porém, o ambiente em que estas são armazenadas e manipuladas torna-se a fonte primária direta de recontaminação, principalmente devido à umidade.

Veldmam et al. (1995) enfatizam a importância da peletização, já que em ração farelada foi encontrado um índice de contaminação por salmonela de 21%, e em produtos peletizados, o índice caiu para 1,4%.

2.4 Efeitos da muda induzida em poedeiras.

A muda induzida é um processo freqüentemente usado em poedeiras mais velhas para estimular a produção de ovos. As poedeiras apresentam uma produtividade aumentada após serem submetidas a esse processo. De acordo com Bell (1987), citado por Holt et al. (1994) em 1987, estimou-se que aproximadamente 60% das galinhas de todo país e quase 90% das galinhas da Califórnia sofriam muda.

A remoção da alimentação e da água, mais a alteração do fotoperíodo, são os métodos mais usados para se induzir a muda (Hembree et al., 1978; Lee, 1982; Andrews et al., 1987 citados por Holt et al., 1994).

Segundo Corrier et al. (1997), a muda induzida pela remoção da alimentação é comumente usada pelas granjas dos Estados Unidos para estimular a produção de ovos em aves mais velhas. Em seguida à muda e

restabelecimento da alimentação, as galinhas voltam a um estado fisiológico estável e começam a aumentar a produção de ovos em 2 a 4 semanas.

De acordo com Oliveira (1993), no Brasil, a prática da muda forçada tem sido adotada desde 1960, mas ganhou ênfase na década de 1980 com o advento da economia inflacionária, visando uma exploração das poedeiras por um período maior de tempo. Segundo Oliveira (1994), o Brasil ocupa o segundo lugar na produção mundial de ovos e tem sido constante a preocupação dos produtores de ovos comerciais quanto à qualidade do produto. Geralmente, as poedeiras são exploradas até 72 semanas de idade; a partir daí começam, então, a apresentar um decréscimo significativo na produção e qualidade dos ovos devido ao aumento no tamanho dos ovos, sem uma melhora proporcional no peso da casca.

Porém, Oliveira (1992) e Miyano (1993) afirmaram que grupos de aves submetidas ao processo de muda forçada têm evidente melhora na qualidade interna e externa dos ovos.

A muda forçada é uma prática de manejo cada vez mais adotada, pois além de aumentar a produção e a qualidade dos componentes internos e externos dos ovos, também evita o custo de reposição anual das poedeiras.

Pesquisas recentes, no entanto, têm demonstrado que durante o período de jejum, as galinhas sofrem mais de infecções intestinais causadas por salmonelas.

Exame histológico de ceco e colo de galinhas infectadas que sofreram muda revelou inflamação enquanto que os intestinos de galinhas infectadas que não sofreram muda, apresentaram mudanças mínimas. A muda induzida através do jejum deprime significativamente a resposta imunitária celular e diminui o número de linfócitos periféricos do sangue (Holt e Porter Junior, 1992).

Desnutrição aguda e inanição mudam o meio ambiente dos intestinos e alteram radicalmente a composição e populações da microbiota nativa (Savage,

1987). O efeito protetor da microbiota intestinal normal, contra a colonização por *Salmonella enteritidis* em galinhas Leghorn, tem sido aumentado pela adição de lactose à água de beber e alimentos (Corrier et al., 1994).

Como as indústrias avícolas utilizam a muda induzida como uma importante medida econômica, estudos têm sido realizados visando métodos alternativos ao jejum para se induzir a muda e ao mesmo tempo diminuir o potencial de risco à infecção por *Salmonella*.

Rolon, Buhr e Cunningham (1993) descreveram uma dieta de baixa energia, baixa densidade e baixos teores de cálcio, que quando usada em quantidades limitadas, induzia a muda, assim como o jejum de longo período. Devido ao fato das galinhas continuarem se alimentando durante todo o procedimento de muda, o impacto fisiológico de se administrar tal dieta de muda pode ser menos traumático que a remoção total da alimentação, e o efeito sobre a infecção por *Salmonella enteritidis* também poderia ser diminuído.

Corrier et al. (1997) realizaram um trabalho com galinhas da raça Leghorn com mais de 50 semanas de idade, que foram divididas em 3 grupos: 1, grupo controle- não sofreu muda; 2, galinhas que sofreram muda; 3, galinhas que sofreram muda e foram tratadas com lactose. Os resultados desse trabalho sugeriram que durante a muda ocorre um aumento na susceptibilidade à colonização por *Salmonella enteritidis*. Esse fato pode estar associado a uma decrescente fermentação e produção de ácidos graxos voláteis por bactérias do ceco ou por depleção do número de bactérias produtoras de ácidos graxos voláteis presentes no ceco, sugerindo, assim, que fornecer lactose na água de bebida durante a muda pode acentuar significativamente a resistência à colonização por *Salmonella enteritidis*.

Devido ao fato de ovos para consumo humano serem a maior fonte de infecção por *Salmonella enteritidis* em humanos, práticas que reduzem a resistência de galinhas poedeiras à infecção podem aumentar o risco dos ovos

como uma fonte de salmonela em humanos; o risco de ovos contaminados por *Salmonella enteritidis* parece aumentar três vezes em galinhas que sofreram muda, durante as primeiras 10 semanas após a muda (Corrier et al., 1997).

2.5 *Salmonella enteritidis* em ovos

Pesquisas registram, em todo mundo, um aumento da incidência de salmonelose humana causada por *Salmonella enteritidis*. Silva (1995) associa este fato ao aparecimento de cepas mais virulentas para aves e o homem.

St. Louis et al. (1988) afirmam que surtos de toxinfecções alimentares causados por *Salmonella enteritidis* atribuídos ao consumo de ovos, ou alimentos contendo ovos contaminados, têm crescido nos últimos anos.

A primeira evidência do envolvimento de *Salmonella enteritidis* ocorreu num grande surto em 1986, nos E.U.A., envolvendo massa comercial congelada recheada com mistura de queijo, condimentos esterilizados e ovos crus.

Segundo St. Louis et al. (1988), levantamentos epidemiológicos foram realizados nos E.U.A., no período entre 1973 a 1984, revelando que 44% dos surtos de toxinfecções alimentares causados por *Salmonella enteritidis* tinham o ovo como alimento veiculador, para apenas 15% dos surtos causados por outros sorotipos de *Salmonella*.

Nos E.U.A., em 1989, o isolamento de *Salmonella enteritidis* atingiu 20% do total de sorotipos isolados, enquanto o número de isolamentos de *Salmonella typhimurium* foi de 21% do total relatado nesse ano, demonstrando uma ascensão na incidência de *S. enteritidis*, muito próxima de *S. typhimurium*, considerado o sorotipo prevalente.

Num trabalho realizado por Lirio et al. (1999), foram isoladas 140 cepas de *Salmonella* em amostras de alimentos variados, no período de 01/92 a 12/96. Considerando o isolamento de *Salmonella* entre este período, observa-se um aumento anual crescente no número de isolamentos em alimentos, sendo

Enteritidis o sorotipo predominante, representando 70,6% do total de cepas isoladas.

Nas aves, os sintomas clínicos, como diarreia e redução de postura, podem ou não aparecer, dependendo das condições de resistência das aves, dose infectante e virulência das cepas.

A preocupação com a salmonela em avicultura se iniciou em meados da década de 80, quando a *Salmonella enteritidis* Tipo 4 apareceu, na Inglaterra, causando sérios problemas em humanos. Muito se tem aprendido desde então sobre salmonelas e seu controle.

Salmonelas se encontram em muitas partes dos animais, na água, no meio ambiente, nos alimentos animais; por isso, os ovos de reprodutoras podem se contaminar por várias vias. Dependendo do sorotipo, sua agressividade e adaptação ao hospedeiro pode se identificar pelo menos 4 rotas: ovários, ovidutos, cloaca e meio ambiente contaminados (Baxter-Jones, 1996).

Existem várias formas pelas quais podem ocorrer a penetração e transmissão de *Salmonella enteritidis* em ovos. Na transmissão vertical ou transovariana, os folículos ováricos das aves sofrem infecções crônicas causadas por *Salmonella enteritidis* ou outras espécies e a transmissão do microrganismo ocorre durante a formação do ovo. Esse tipo de transmissão se dá durante a fase aguda da infecção, de uma a duas semanas, em alta frequência, depois permanece baixa por longo período de tempo, até 22 semanas. Segundo St. Louis et al. (1988), a transmissão transovariana é sugerida como uma das prováveis formas de contaminação do conteúdo do ovo durante sua formação e antes da deposição da casca.

Na transmissão horizontal, a forma mais freqüente de contaminação é a postura dos ovos em condições não higiênicas e ocorre pelo contato dos ovos com fezes ou material do ninho contaminados. Os microrganismos presentes nas

fezes, em contato com a superfície dos ovos, têm a capacidade de penetrar através dos poros existentes na casca.

A cutícula é um revestimento da casca composto por proteínas, lipídeos e polissacarídeos e funciona como primeira barreira contra a penetração das bactérias; no momento da postura do ovo, a cutícula recém depositada sobre a superfície da casca ainda se encontra úmida e muitos poros podem encontrar-se abertos favorecendo a penetração de bactérias. Por outro lado, quando a cutícula está completamente seca, esta confere alta resistência à invasão de bactérias.

Uma vez que os microrganismos penetram no interior dos ovos, a multiplicação na clara torna-se improvável devido à presença de substâncias inibidoras e o número de células contaminantes viáveis permanece baixo. Entretanto, se ocorrer migração para o interior da gema, o microrganismo se multiplica rapidamente.

A refrigeração é extremamente importante nas plantas de processamento de ovos, pois apenas um ovo contaminado pode prejudicar toda uma partida se as condições de armazenamento não forem obedecidas. Bradshaw et al. (1990) relatam a importância da temperatura de armazenamento no controle microbiológico de salmonelas; em ovos artificialmente contaminados via gema com *Salmonella enteritidis*, o tempo de geração foi de 25 minutos a 37°C, de 3 horas e 30 minutos a 15,5°C e nenhum crescimento bacteriano foi observado em ovos incubados por 94 dias a 7 °C.

As *Salmonella enteritidis* tem a mesma resistência térmica que outras salmonelas. Porém, algumas cepas de *S. enteritidis* podem sobreviver em ovos cozidos que têm parte da gema líquida, e nenhum método padrão de cozimento é capaz de destruí-la quando ela está presente em grande quantidade.

Segundo Humphrey (1989), a viscosidade natural da gema e seu conteúdo lipídico também atuam como protetores contra efeitos térmicos. A destruição é mais efetiva se os ovos forem refrigerados, o que além de prevenir a

multiplicação, torna as células de *Salmonella enteritidis* mais termossensíveis, favorecendo, assim, sua destruição.

2.6 O uso de antibióticos

Os antibióticos são utilizados para reduzir a mortalidade e promover o crescimento de aves; porém, o uso indiscriminado desses medicamentos tem levado ao surgimento de microrganismos resistentes.

Segundo Villegas (1993), a quimioterapia tem sido de grande ajuda para reduzir a mortalidade em aves infectadas; entretanto, o uso periódico e indiscriminado de antibióticos vem auxiliando o processo de seleção de linhagens de *Salmonella* resistentes, e conseqüentemente colaborando na seleção de aves portadoras crônicas, que são a principal fonte de disseminação desse patógeno.

Berchieri Júnior et al. (1993), examinando amostras de rações, isolaram cepas que apresentavam altos percentuais de resistência a vários antimicrobianos (e até 100% de resistência a eritromicina, sulfonamida, colistina, estreptomomicina, bacitracina e penicilina).

O aumento de casos humanos devidos à contaminação de alimentos com *Salmonella typhimurium*, cepa DT 104, tem aumentado a preocupação das autoridades sanitárias de vários países, especialmente da Grã-Bretanha; porém, o que preocupa ainda mais é o caráter de resistência da cepa a vários antibióticos, incluindo ampicilina, clorafenicol, estreptomomicina, sulfonamidas e tetraciclina, de 39% em 1990 para 97% em 1995 (Cresce..., 1998).

Baú et al. (1999) investigaram, em Pelotas, RS, no período de maio de 1997 a outubro de 1998, os sorovares mais freqüentes e sua sensibilidade a antibióticos. Nesse trabalho, foram realizados 13 isolamentos sorotipificados como *S. enteritidis* (10), *S. anatum* (1) e *S. enterica* (2), e todas as cepas foram resistentes à penicilina G e sensíveis aos demais microbianos testados.

2.7 Exclusão Competitiva

Medidas convencionais de higiene combinadas ao processo de exclusão competitiva podem servir com uma importante forma de controlar ou reduzir a colonização de salmonela em aves.

A exclusão competitiva se baseia na administração de uma flora bacteriana normal em aves jovens, que diminua ou interfira no crescimento e colonização de alguns microrganismos, como *Salmonella* e *Campylobacter* (Villegas, 1993).

Segundo Bailey (1994), a exclusão competitiva implica no impedimento da entrada de um determinado microrganismo em um local específico devido a este local estar ocupado por outro organismo melhor capacitado para estabelecer-se e manter-se nesse local e ainda produzir uma substância tóxica para seu competidor.

“As formulações de exclusão competitiva (EC) têm sido usadas como rotina na Finlândia, desde 1976, e hoje, mais de 90% dos frangos finlandeses são tratados, resultando num declínio muito significativo na contaminação por salmonela, tanto a campo como nas carcaças” (Salmonella..., 1997).

2.8 Pontos críticos de contaminação

Mesmo com todo desenvolvimento tecnológico e a adoção de melhores medidas de higiene, a incidência de salmonelose vem aumentando em várias partes do mundo. Muitos esforços têm sido feitos para reduzir a incidência de salmonelas, desde o desenvolvimento das aves até o processamento de seus produtos finais (carcaças, embutidos e outros produtos).

O método mais eficiente para prevenir a contaminação com salmonelas é o de controle dos pontos críticos, que consiste em identificar os pontos de maior risco, adotar medidas correspondentes e depois monitorar continuamente sua efetividade (Baxter-Jones, 1996).

Segundo WHO (1987), a incidência de salmonelas numa linha de abate de frangos depende principalmente das práticas de higiene adotadas e dos cuidados nas diversas etapas envolvidas durante o abate.

Aves aparentemente sadias podem apresentar salmonelas em seu trato gastrointestinal.

De acordo com Silva (1998), o mecanismo de contaminação da carcaça de aves, durante o processamento, envolve inicialmente a retenção das bactérias numa camada líquida sobre a pele, para que essa camada de microrganismos possa aderir convenientemente. Algumas espécies de *Salmonella* são capazes de aderir firmemente às fibras de colágeno da superfície externa da pele do frango, após a imersão em água. Esta adesão não depende de fimbrias, ocorre apenas pelo contato da célula microbiana com a pele do frango, no contato com a água e não podem mais ser removidas apenas pela lavagem.

A sanitização da carcaça de frango é uma operação importante para reduzir a incidência de salmonelas, mas até mesmo esse processo não será eficaz se os locais de abate e manipulação não estiverem devidamente higienizados. A indústria de alimentos utiliza sanitizantes, como hipoclorito de sódio e quaternário de amônia, para a desinfecção de superfícies que entram em contato com os alimentos.

Os ácidos acético e láctico, pelo fato de sua toxicidade ser alta contra microrganismos e baixa contra os humanos, também são utilizados com bastante eficiência na sanitização de carcaças. De acordo com Carlet et al. (1980), citado por Silva (1998), a ação antimicrobiana desses ácidos resulta de sua ação lipofílica, na qual os íons hidrogênio penetram a membrana celular do microrganismo, acidificando o seu interior, inibindo, assim, o transporte de nutrientes.

As camas e ninhos nos quais as aves são alojadas, além de fômites, como sapatos, caixas de transporte, equipamentos e o próprio homem, podem ser

agentes de contaminação. Segundo Jones et al. (1991), citado por Bosquioli (1996), camas e ninhos nos quais as aves são alojadas no galpão são uma grande fonte de contaminação ambiental e as taxas de isolamento neste tipo de amostra são variáveis por causa de diversos fatores envolvidos, como idade do lote, taxa de animais infectados e de excreção, vetores animais, manejo e período de utilização da cama.

O incubatório também é um dos pontos críticos no controle de salmonelas, que podem estar presentes em penugens, cascas de ovos, restos de fezes e bandejas de incubação.

Magwood (1964), citado por Cox (1989), estudou as populações microbianas em incubadoras comerciais e concluiu que as concentrações mais altas de bactérias estavam sempre associadas a pintos recém nascidos e seus resíduos na incubadora.

Cox (1989) realizou um trabalho em que concluiu que a maioria das amostras (76%) das incubadoras comerciais estava contaminada com *Salmonella*; e das 70 amostras de ovo, 50 (71%) estavam positivas para *Salmonella*.

De acordo com Bailey et al. (1992), estudos nos Estados Unidos demonstram taxas de até 75% de positividade para salmonelas em penugens e cascas de ovos nas bandejas de incubação. Medidas de prevenção como seleção, limpeza e desinfecção dos ovos, diminuem a possibilidade de introdução da infecção no incubatório.

O problema continua até o abatedouro, onde a contaminação pode ocorrer tanto pelo contato entre aves sadias e contaminadas como por contaminação cruzada durante o processo de abate.

A imersão no tanque de escaldagem, a passagem pelas máquinas depenadeiras, a evisceração manual e mecânica resultam na transferência e multiplicação de salmonelas em carcaças. Devido a esse fato, as bactérias

disseminam-se facilmente no ambiente, comprometendo a qualidade das carcaças e subprodutos que entram na composição das rações dos animais (Santos,1998).

3 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida na Universidade Federal de Lavras – UFLA, com as amostras coletadas em uma granja comercial.

As poedeiras de um mesmo lote foram submetidas a um processo convencional de muda forçada, após o qual foram então retiradas as amostras utilizadas neste experimento.

3.1 Material

As amostras de matérias primas foram coletadas no momento da fabricação de cada partida de 2000 kg de ração. Depois, de uma parte aleatória de um plantel de 49.500 poedeiras, coletaram-se amostras de ração nos cochos, amostra de ovos, amostra de esterco sobre as galinhas, e ainda 5 galinhas vivas para estudos.

Amostras de outras farinhas de carne, farelo de trigo e farelo de soja procedentes de 6 fábricas, utilizadas no aviário antes do início do experimento, foram também analisadas a fim de se verificar a presença de *Salmonella* sp e possível correlação de sorotipos dentro do aviário, possibilitando, assim, a verificação também de contaminação cruzada.

3.1.1 Farinhas de origem animal e rações

Foram analisadas amostras de farinha de carne e de farinha de ostras, utilizadas no preparo da ração consumida pelas poedeiras da granja. Foram analisadas, também, amostras desta ração.

3.1.2 Material do ovário, intestino e cloaca das poedeiras

As poedeiras foram submetidas ao abate e em condições assépticas, foi realizada uma incisão no abdome, de onde foram retiradas porções do ovário, intestino e cloaca para o isolamento de salmonela.

3.1.3 Ovo (gema e casca) das poedeiras

Os ovos foram coletados, quebrados e as gemas homogeneizadas para retirada da amostra. Também as cascas foram quebradas e homogeneizadas para análise.

3.1.4 Fezes das poedeiras

Foram coletadas amostras de fezes nos dias de amostragem do experimento.

O cronograma de coleta e o período de amostragem encontra-se descrito na Tabela 1.

TABELA 1 Cronograma de coleta das amostras em granja comercial para poedeiras.

Amostras	Descrição
1	Antes da muda forçada
2	Término da muda forçada *
3	60 dias após o término do regime de muda
4	75 dias após o término do regime de muda
5	90 dias após o término do regime de muda

* Não foi feita análise durante o jejum.

3.2 Métodos

3.2.1 Análises microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras.

A sorotipagem das cepas de *Salmonella* sp. isoladas foi feita no Departamento de Bacteriologia do Instituto Oswaldo Cruz - FIOCRUZ, Rio de Janeiro.

3.2.2 Isolamento de Salmonella

Utilizou-se, como regra geral, o método descrito “ American Public Health Association – APHA”, obedecendo os seguintes passos (Compendium, 1992).

3.2.3 Pré-enriquecimento

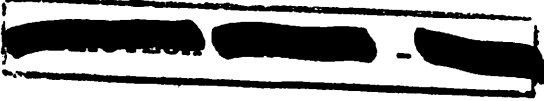
No laboratório, as amostras pesadas em porções de 25g/ml foram adicionadas a 225 ml de água peptonada tamponada a 1% e incubadas a 37°C por 24h, como pré- enriquecimento para o isolamento inicial das amostras.

3.2.4 Enriquecimento seletivo

Aliquotas de 1ml de amostra pré- enriquecida eram adicionados em 10 ml de caldo tetracionato Muller Kauffmann (TMK) e 10 ml de caldo Rapaport-Vassiliadis (RV) e incubados nas temperaturas de 37°C e 43°C, por 24h.

3.2.5 Plaqueamento seletivo

Foram utilizados o ágar *Salmonella-Shigella* (SS) e o ágar Rambach (RAM). Após o período de incubação, era retirada, dos tubos dos caldos



Tetracionato Muller-Kauffmann (TMK) e Rappaport Vassiliadis (RV), uma alçada para plaqueamento em estrias de esgotamento nas placas de petri contendo os ágar seletivos. As placas eram então incubadas de acordo com a temperatura de incubação dos caldos delas originadas (37°C e 43°C), por 24h.

3.2.6 Triagem de colônias suspeitas

As colônias que apresentavam reações indicativas de serem salmonelas nos ágar seletivos eram selecionadas e transferidas para ágar (PCA) inclinado para purificação. Após a purificação das cepas (nos meios SS e Rambach ágar), efetuava-se a coloração de Gram para início da identificação. As cepas que apresentavam características de gram negativas e bastonete eram então separadas para o teste de oxidase.

Todas cepas gram negativas, bastonete e oxidase negativa foram inoculadas nos meios de triagem Triple Sugar Iron Agar (TSI) e Lysin Iron Agar (LIA). A inoculação foi feita através de uma picada central e estriamento sobre a superfície inclinada. Os tubos eram identificados e incubados a 37°C por 24h. Após este período, os tubos que apresentavam reações características de serem salmonelas eram selecionadas para inoculação em “kits” de identificação.

3.2.7 Identificação bioquímica

Objetivando uma rápida identificação bioquímica, foi utilizado o sistema comercial API 20E (BIOMerriex), que é um sistema de identificação de Enterobacteriaceae e outros bacilos gram negativos, mediante 23 testes bioquímicos estandarizados e miniaturizados, e uma base de dados.

3.2.8 Identificação sorológica

As cepas caracterizadas bioquimicamente, como *Salmonella* sp, foram identificadas, repicadas em frascos de vidro contendo o meio Brain Heart Agar

(BHI ágar), fechados com tampas de borracha e lacre de alumínio, para posterior envio ao Departamento de Bacteriologia da Fundação Oswaldo Cruz FIOCRUZ, Rio de Janeiro, para identificação sorológica.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análise das farinhas utilizadas no preparo das rações

Os resultados do isolamento de *Salmonella* sp em amostras de farinha de carne, farelo de trigo e farelo de soja estão demonstrados na Tabela 2.

TABELA 2 Isolamento de *Salmonella* sp em matérias- prima utilizadas para o preparo das rações das poedeiras.

Amostra	Isolados	Sorotipos Identificados
Farinha de carne	14	5
farelo de trigo	0	negativo
farelo de soja	0	negativo

As farinhas de origem animal são constantemente mencionadas na literatura como sendo a principal fonte de transmissão de salmonelas para rações, e conseqüentemente para as aves (Gabis, 1991; Jones et al., 1991).

Bosquiroli (1996), analisando amostras de farinhas, obteve os índices mais altos de contaminação entre todas amostras testadas: 55%, 48,5% e 46,2% para farinha de carne, penas e vísceras, respectivamente; as rações preparadas com estas matérias-primas tinham 6 do total de 24 sorotipos isolados. Entre os 6 sorotipos isolados na ração pelo autor, estão: *S. cerro* e *S. agona*, que coincidem em parte com os isolados nesta pesquisa.

Apesar da maior incidência de contaminação na ração ocorrer devido ao uso de ingredientes de origem animal, já foi constatada a presença de *Salmonella* em produtos de origem vegetal, como relatado nos trabalhos de Veldman et al. (1995) e Verdi, Torres e Barbosa (1996). No presente trabalho, estes microrganismos não foram detectados neste tipo de farinha (Tabela 2).

Somente foram isolados e identificados sorotipos de *Salmonella* em 3 dos 6 fornecedores pesquisados.

Os sorotipos identificados nas farinhas destes fornecedores são mostrados na Tabela 3.

TABELA 3 Sorotipos identificados em farinhas de carne de diferentes fornecedores.

Número	Sorotipo	Fornecedor
1	<i>S. agona</i>	A
2	<i>S. worthington</i>	B
3	<i>S. agona</i>	A
4	<i>S. montevideo</i>	C
5	<i>S. montevideo</i>	B
6	<i>S. cubana</i>	C
7	<i>S. cubana</i>	C
8	<i>S. agona</i>	A
9	<i>S. agona</i>	A
10	<i>S. agona</i>	A
11	<i>S. agona</i>	A
12	<i>S. cubana</i>	C
13	<i>S. cerro</i>	C
14	<i>S. cerro</i>	C

Somente a *S. agona* foi identificada nas amostras analisadas do fornecedor A , representando 43% do total de sorotipos identificados, seguidos de *S. cubana* (21%), *S. cerro* (14%), *S. montevideo* (14%) e *S. worthington* (7%). Estes números, ilustrados na Figura 1, demonstram a importância do

controle da procedência de matérias-primas para fabricação de rações, uma vez que estas representam um ponto inicial de distribuição de salmonelas por todo ambiente avícola.

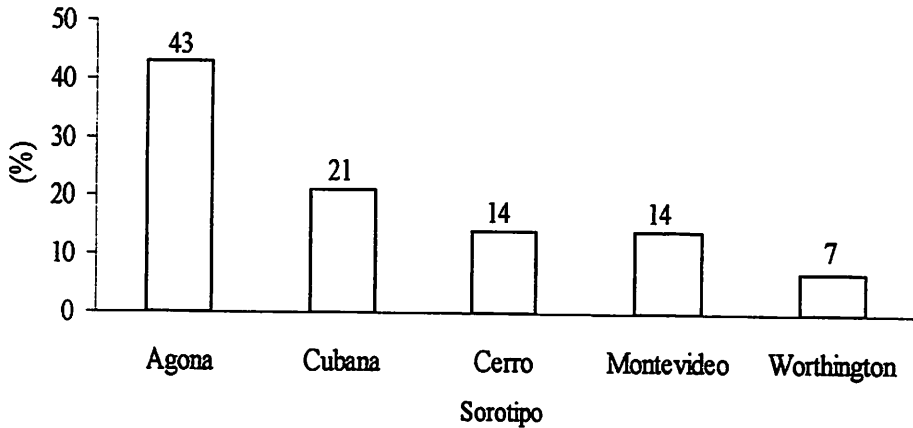


FIGURA 1 Porcentagem de sorotipos de *Salmonella* isolados em farinha de carne de diversas procedências, utilizadas em granja comercial para poedeiras.

O uso de rações livres de salmonelas não significa necessariamente ausência de infecção nas aves, mas representa o primeiro passo no controle e redução deste microrganismo. A partir daí, outros segmentos do ciclo de produção aviária devem ser alterados a fim de se evitar a transmissão e propagação da infecção.

Berchieri Júnior et al. (1987), Costa, Rossi e Tavechiro (1996), Bosquioli (1996) e Lírio et al. (1999), analisando amostras de rações, matérias primas de origem animal e carcaças, encontraram o sorotipo Agona.

Saitanu e Jergklinchan (1994) realizaram um trabalho na Tailândia, analisando amostras de ingredientes de origem animal, e também encontraram o

sorotipo Agona. Este resultado sugere que o problema no Brasil é semelhante ao de outros países.

Uma medida importante para impedir a disseminação de salmonelas no ambiente avícola seria o uso de ração peletizada ou ração farelada com tratamento térmico, como sugerem os trabalhos de Cox (1989), Bates e Grandshaw (1995) e Veldman et al. (1995).

4.2 Análise da presença de *Salmonella* sp antes e após regime de muda forçada nas poedeiras

Os resultados do isolamento de *Salmonella* sp em amostras de farinha de carne, farinha de ostras, ração, cloaca, intestino, ovário, ovo (gema e casca) e fezes estão demonstrados na Tabela 4.

TABELA 4 Sorotipos de *Salmonella* presentes em amostras retiradas em granja comercial de poedeiras antes e após regime de muda forçada.

Amostra	Isolados	Sorotipos Identificados
Fezes	15	<i>S. give</i>
Farinha de carne	9	<i>S. give</i>
		<i>S. cerro</i>
Ração	8	<i>S. give</i>
		<i>S. cubana</i>
Cloaca	1	<i>S. give</i>
Farinha de ostras	0	negativo
Intestino	0	negativo
Ovário	0	negativo
Gema	0	negativo
Casca dos ovos	0	negativo

Foram identificados 3 sorotipos (*S. give*, *S. cerro* e *S. cubana*) das 33 cepas tipificadas, sendo 2 (*S. cerro*, *S. give*) em farinha de carne, 1 (*S. give*) em fezes, 2 (*S. give*, *S. cubana*) em ração e 1 (*S. give*) em cloaca.

A *S. give* foi o sorotipo predominante, representando 63,6% do total de sorotipos identificados, seguidos de *S. cerro* (18,2%) e *S. cubana* (18,2%) como demonstrados na Figura 2.

A *S. give* é um sorotipo comumente isolado de fezes, vísceras e carcaças de aves, bem como em farinhas de carne (Berchieri Júnior et al., 1987; Santos, 1998; Lírio et al., 1999).

Hofer, Silva Filho e Reis (1997) analisaram a prevalência de sorovares de *Salmonella* isolados de aves no Brasil e os classificaram segundo o nível de ocorrência (muito freqüentes, freqüentes, comuns mas não freqüentes, acidentais ou raros) no período de 30 anos. A *S. give* foi classificada como comum, mas não freqüentes. Com relação aos sorotipos *S. cerro* e *S. cubana*, também isolados na presente pesquisa, estes autores os classificaram como comum mas não freqüentes e acidentais ou raros respectivamente.

As amostras de fezes analisadas nesta pesquisa apresentaram maior número de isolamentos. Berchieri Júnior et al. (1987), examinando amostras de fezes em um abatedouro avícola, afirmaram que a detecção de salmonelas nas fezes das aves colhidas na plataforma de recepção demonstra que as aves são um dos meios de transmissão, considerado inclusive como a principal fonte de *Salmonella* para o abatedouro, no qual as operações de abate propiciam a disseminação.

O alto índice de isolamento de salmonela presente nas fezes, contrastando com um baixo índice de isolamento na cloaca e ausência de isolamento no intestino, sugerem uma contaminação externa pela presença de Salmonelas no ambiente.

Também Nagaraja, Pomeroy e Williams (1991) citaram que na transmissão de salmonelas entre aves adultas, fezes são provavelmente a maior fonte de infecção; a população bacteriana e a natureza do ambiente estão entre os muitos fatores que determinam a extensão de tais transmissões.

O não isolamento de *Salmonella* na farinha de ostras, ovário e ovos não significa necessariamente a não presença destes microrganismos nas amostras. Lírio et al. (1999), analisando alimentos envolvidos em toxinfecções alimentares causadas por *Salmonella*, encontraram ovos crus contaminados com o sorotipo Enteritidis.

Já Baú, Carvalho e Aleixo (1999) analisaram a presença de salmonelas em produtos de frango e ovos. Nas amostras de ovos, não foi detectada a presença de salmonelas.

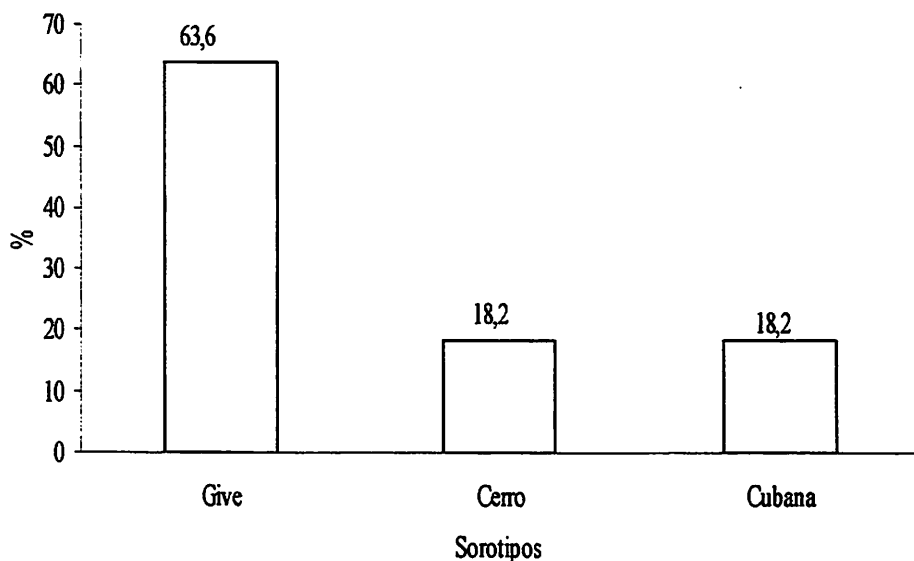


FIGURA 2 Porcentagem de sorotipos de *Salmonella* isolados em amostras retiradas em granja comercial de poedeiras após regime de muda forçada.

4.3 Avaliação da predominância de *Salmonella* no período de muda forçada

TABELA 5 Sorotipos de *Salmonella* sp identificados nos diferentes períodos de amostragem.

*Períodos de amostragem	Sorotipos presentes nos materiais pesquisados					
	Fezes	Far. car.	Ração	Cloaca	Gema	Casca
1	<i>S. give</i>	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
2	<i>S. give</i>	<i>S. cerro</i>	ausente	ausente	ausente	ausente
3	<i>S. give</i>	<i>S. give</i> e <i>S. cerro</i>	<i>S. give</i>	<i>S. give</i>	ausente	ausente
4	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
5	ausente	ausente	<i>S. cubana</i>	ausente	ausente	ausente

* 1= antes da muda forçada
 2= término da muda forçada
 3= 60 dias após o término do regime e iniciada a postura
 4= 75 dias após o término do regime
 5= 90 dias após o término do regime

Nota-se que *S. give* foi isolada na cloaca e nas fezes na 3ª amostragem, ou seja, 30 dias após o jejum e iniciada a postura. A deficiência imunológica causada pelo jejum, citada por Holt e Porter Júnior (1992), pode explicar esta presença, detectada à este nível. Segundo estes mesmos autores, o jejum provoca uma queda na resistência das galinhas a infecções por salmonelas, resultando num aumento da severidade da infecção.

A presença deste sorotipo (*S. give*), conforme a Tabela 5, demonstra também que o mesmo estava presente tanto nas fezes como na farinha de carne e ração analisadas. Esta correlação vem demonstrar a importância já comentada anteriormente sobre a presença de sorotipos em farinhas, rações, ambiente avícola, água, com a presença em ovos contaminados.

Bosquiroli (1996) e Santos (1998) também correlacionaram a presença de um mesmo sorotipo tanto em farinhas de origem animal e rações quanto em

carcaças. Esta correlação pode estar associada à ingestão de alimento contaminado pelas aves.

Em relação à presença de outros sorotipos encontrados (*S. cerro* e *S. cubana*) nas farinhas utilizadas na mesma granja em que foi instalado o experimento, somente 1 sorotipo (*S. cerro*) coincide com o detectado nas análises efetuadas posteriormente, e mesmo assim, detectado somente no mesmo tipo de amostra, ou seja, na farinha de carne.

Face a isto, não se pode, aqui, afirmar que estas farinhas que são utilizadas habitualmente na granja estejam promovendo uma contaminação cruzada dentro deste ambiente avícola. Porém, é de suma importância o controle destes microrganismos isolados destas farinhas, pois como as mesmas são comumente utilizadas para alimentação de poedeiras, poderão estar levando este tipo de contaminação aos produtos finais, ou seja, aos ovos consumidos.

5 CONCLUSÕES

- Durante o regime convencional de muda forçada, somente foi detectada *Salmonella give* na cloaca e nas fezes, sendo a correlação verificada 30 dias após o término do regime e início da postura;
- Foi detectada a presença de *Salmonella* nas amostras de farinha de carne, ração, cloaca e fezes das poedeiras;
- Foi detectada a presença de *Salmonella* nas amostras de matérias-primas de origem animal utilizadas para o preparo das rações;
- O sorotipo *S. give* presente na cloaca e nas fezes pode estar associado à ingestão de alimento contaminado pelas aves, uma vez que o mesmo foi também isolado em seus alimentos;
- Não foi possível verificar a ocorrência de contaminação cruzada;
- A possibilidade de contaminação pelas fezes precisa ser considerada pelas empresas.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAILEY, J.S. *Salmonella* en avicultura y en productos avícolas. **Avicultura Profesional**, Athens, v.11, n.4, p. 166-172, 1994.
- BAILEY, J.S.; COX, N.A.; CASON, J.A. et al. Breeder flocks and hatcheries as critical control points for reduction of commensal colonization of broiler chickens. In: **INTERNATONAL SYMPOSIUM ON SALMONELLA AND SALMONELLOSIS**, 13., 1992, Ploufragan/Saint Briec. **Proceedings...** Guivarch: World Veterinary Poultry Association, 1992. p. 258-264.
- BATES, C.; GRANDSHAW, D. Control de la *Salmonella*: un ejemplo de trabajo. **Avicultura Profesional**, Athens, v.12, n.4, p. 164-174, 1995.
- BAÚ, A.C.; CARVALHAL, J.B.; ALEIXO, J.A.G. *Salmonella* em produtos de frango e ovos de galinha comercializados em Pelotas, RS. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.13, n.60, p.26, abr./maio 1999.
- BAXTER-JONES, C. Control de la transmisión vertical de salmonella. **Avicultura Profesional**, Athens, v.14, n.1, p. 18, 1996.
- BERCHIERI JÚNIOR, A.; ADACHI, S.Y.; CALZADA, C.T. et al. Farinha de carne como fonte de *Salmonella* em granja avícola. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.9, n.1-2, p. 9-12, 1989.
- BERCHIERI JÚNIOR, A.; FERNANDES, S.A.; IRINO, K. et al. *Salmonella* in poultry feeds in Brazil. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v.24, n.1, p. 22-25; 1993.
- BERCHIERI JÚNIOR, A.; IRINO, K.; NEMES, S.N. et al. Contaminação por *Salmonella* em farinhas de origem animal utilizadas no preparo de rações. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.4, p. 83-85, 1984.
- BERCHIERI JÚNIOR., A.; PAULILLO, A.C.; FERNANDES, S.A. et al. *Salmonella* em um abatedouro avícola. **Ars Veterinária**, Jaboticabal, v.3, n.1, p. 81-87, 1987.

- BISCHOFF, J. Results of ten years of testing foods of animal origin for salmonella. *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift*, Berlin, v.82, p. 193-195. In: *VETERINARY BULLETIN*, Weybridge, v.12, n.39, p. 820, 1969. (Resumo).
- BOSQUIROLI, S.L. Estudo epidemiológico sobre a ocorrência de salmonelas em uma empresa de integração de frangos de corte. Campinas: UNICAMP, 1996. 58p. (Dissertação - Mestrado em Tecnologia dos Alimentos).
- BRADSHAW, J.G.; SHAH, D.B.; FORNEY, E. et al. Growth of *Salmonella enteritidis* in yolk of shell eggs from normal e seropositive hens. *Journal of Food Protection*, Ames, v.53, p. 1033-1036, 1990.
- COMPENDIUM of methods for the microbiological examination of foods. 3.ed. Washington: American Public Health Association, 1992.
- CORRIER, D.E.; NISBET, D.J.; HARGIS, B.M. et al. Provision of lactose to molting hens enhances resistance to *Salmonella enteritidis* colonization. *Journal of Food Protection*, Ames, v.60, n.1, p. 10-15, Jan. 1997.
- CORRIER, D.E.; NISBET, D.J.; SCANLAN, C.M. et al. Inhibition of *Salmonella enteritidis* cecal and organ colonization in Leghorn chicks by a defined culture of cecal bacteria and dietary lactose. *Journal of Food Protection*, Ames, v.56, p. 377-381, 1994.
- COSTA, F.N.; ROSSI, O.D.; TAVECHIRO, A.T. Sorotipos de *Salmonella* isolados de carcaças e cortes de frango. In: CONFERÊNCIA APINCO, 1996, Curitiba. Resumos... Campinas: FACTA, 1996. p.57.
- COX, N.A. Contaminación por salmonella en incubadoras comerciales. *Avicultura Profesional*, Athens, v.7, n.2, p. 74-78, 1989.
- CRESCER preocupação com *Salmonella typhimurium* cepa DT 104. *Revista Higiene Alimentar*, São Paulo, v.12, n.57, p. 58, 1998.
- ERWIN, L.E. Examination of prepared poultry feeds for the presence of *Salmonella* and other enteric organisms. *Poultry Science*, Champaign, v.34, p. 215-216, Jan. 1955.

- GABIS, D.A. Environmental factors affecting enteropathogens in feed and feed mills. In: BLANKENSHIP, L.C. (ed.) **Colonization control of human bacterial: enteropathogens in poultry: food science and technology: a series of monographs.** San Diego: Academic Press, 1991. p. 23-27.
- GIORGI, W.; OHASHI, K.; ARAÚJO, W.P. Farinha de peixe e farinha de carne como fontes de salmonelas para animais. *Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo*, v.38, n.2, p. 59-62, 1971.
- GIRÃO, F.G.F.; OLIVEIRA, R.L.; FERREIRA, H.B.C. et al. Isolamento de salmonela a partir de amostras de matérias-primas e rações e de materiais provenientes de aves. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE AVICULTURA; CONGRESSO BRASILEIRO DE AVICULTURA, 8., 1983, Camboriú. *Anais...* Camboriú: UBA, 1983. v.2, p. 469-476.
- HOFER, E.; SILVA FILHO, S.J.; REIS, E.M.F. Prevalência de sorovares de *Salmonella* isolados de aves no Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Rio de Janeiro, v.17, n.2, p. 55-62, abr./jun. 1997.
- HOLT, P.S.; BUHR, R.J.; CUNNINGHAM, D.L. et al. Effect of two different molting procedures on a *Salmonella enteritidis* infection. *Poultry Science*, Champaign, v.73, p. 1267-1275, 1994.
- HOLT, P.S.; PORTER JUNIOR, R.E. Effect of induced molting on the course of infection and transmission of *Salmonella enteritidis* in White Leghorn hens of different ages. *Poultry Science*, Champaign, v.71, p. 1842-1848, 1992.
- HUMPHREY, T.J. The effects of high or low temperature or acid on the survival of salmonellas in eggs, eggs-products or poultry meat. *Turkeys*, Nerbury, v.37, p. 13-14, 1989.
- JONES, F.T.; AXTELL, R.C.; RIVES, D.V. et al. A survey of *Salmonella* contamination in modern broiler production. *Journal of Food Protection*, Ames, v.54, n.7, p. 502-507;513, 1991.
- LÍRIO, V.S.; SILVA, E.A.; STEFONI, S. et al. Frequência de 17 sorotipos de *Salmonella* isolados em alimentos. *Revista Higiene Alimentar*, São Paulo, v 12, n.55, p.36-42, maio/jun. 1999.

- MIYANO, O.A. Viabilidade econômica da muda forçada em poedeiras comerciais. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1993, Santos. Anais... Campinas: FACTA, 1993. P. 159-166.
- NAGARAJA, K.V.; POMEROY, B.S.; WILLIAMS, J.E. Paratyphoid infections. In: COLNEK, B.W. (ed.) Diseases of poultry. 3.ed. Ames: University Press, 1991. p. 99-130.
- OLIVEIRA, B.L. Alimentação de poedeiras leves após muda forçada. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE NUTRIÇÃO DE AVES, 7., 1993, Campinas. Anais... Campinas: [s.n.]. 1993. p. 47-51.
- OLIVEIRA, B.L. Pontos críticos do manejo de poedeiras. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 92., 1992, Santos. Anais... Campinas: FACTA, 1992. p. 137-144.
- OLIVEIRA, R.M. Avaliação comparativa de alguns métodos de indução de muda em poedeiras comerciais. Lavras: UFLA, 1994. 77p. (Dissertação – Mestrado em Zootecnia).
- ROLON, A.; BUHR, R.J.; CUNNINGHAM, D.L. Twenty-four-hour feed withdrawal and limited feeding as alternative methods for induction of molt in laying hens. Poultry Science, Champaign, v.72, p. 776-785, 1993.
- SAITANU, K.; JERNGKLINCHAN, J. Isolation of *Salmonella* from poultry feed and feed ingredients in Thailand. Journal Veterinary Malaysia, Malaysia, v.6, n.1, p. 21-24, 1994.
- SALMONELLA special: gerentes de fábricas de ração sob a mira da salmonela. Feeding Times, Dun Laoghaire, v.2, n.1, p. 7-15, 1997.
- SANTOS, E.J. Rastreamento da disseminação de Salmonelas em frangos de corte a partir de alimento naturalmente contaminado. Lavras: UFLA, 1998. 71p. (Dissertação – Mestrado em Ciência dos Alimentos).
- SAVAGE, D.C. Factors influencing biocontrol of bacterial pathogens in the intestine. Food Technology, Chicago, v.41, p. 82-87, 1987.
- SILVA, E.N. *Salmonella enteritidis* em aves e saúde pública. Revista Higiene Alimentar, São Paulo, v.37, n.9, p. 7-13, 1995.

- SILVA, E.N.; OLIVEIRA, R.L.; REIS, R. et al. Salmonelas em farinhas de origem animal destinadas à fabricação de rações. **Arquivos da Escola de Veterinária da UFMG**, Belo Horizonte, v.25, v.2, p. 169-173, 1973.
- SILVA, J.A. Microrganismos patogênicos em carne de frangos. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.12, n.58, p. 9-14, nov./dez. 1998.
- SOUZA, A.P.M.; VIANA, C.M.; SOUZA, Z.P.O. et al. Epidemiologia de febre tifóide, doença diarréica e surtos de salmonelose na cidade do Rio de Janeiro. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.13, n.61, p.21-22, abr./maio, 1999.
- ST. LOUIS, M.E.; MORSE, D.L.; POTTER, M.E. et al. The emergence of grade a eggs as a major source of *Salmonella enteritidis* infections, new implications for the control of salmonellosis. **Journal of the American Medical Association**, Chicago, v.259, p. 2103-2107, 1988.
- VAN DRURMEL, A.A.; BOYCOTT, B.R.; BROSKI, R.A. A common souece epizootic of bovine salmonellosis in Manitoba. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa v.10, p.33-44, 1969.
- VELDMAN, A.; VAHL, H.A.; BORGGREVE, G.J. et al. A survey of incidence of *Salmonella* species and enterobacteriaceae in poultry feeds and feed components. **Veterinary Record**, London, v.136, n.7, p. 169-172, 1995.
- VERDI, S.R.; TORRES, V.S.; BARBOSA, M. Análise qualitativa e quantitativa de microrganismos patogênicos em farelo de soja. In: CONFERÊNCIA APINCO, 1996, Curitiba. **Resumos...** Campinas: FACTA, 1996. p.105.
- VILLEGAS, P. Posibilidades para el control de *Salmonella*. **Avicultura Profesional**, Athens, v.10, n.3, p. 123-124, 1993.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Control de Salmonellosis: importância de la higiene veterinária y de los productos de origem animal**. [S.l.], 1987.