



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS**

**PAULO NATAN MORENO PEREIRA CASTRO**

**LEVANTAMENTO DE *SALMONELLA* SPP. EM CARÇAÇAS DE FRANGO  
PROVENIENTES DE MATADOUROS AVÍCOLAS SOB O SERVIÇO DE  
INSPEÇÃO ESTADUAL NO ESTADO DA BAHIA, BRASIL**

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA**

**2016**

**PAULO NATAN MORENO PEREIRA CASTRO**

**LEVANTAMENTO DE *SALMONELLA* SPP. EM CARÇAÇAS DE FRANGO  
PROVENIENTES DE MATADOUROS AVÍCOLAS SOB O SERVIÇO DE  
INSPEÇÃO ESTADUAL NO ESTADO DA BAHIA, BRASIL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para obtenção do grau de Médico Veterinário.

Orientador: Prof. Dr. Robson Bahia Cerqueira

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA**

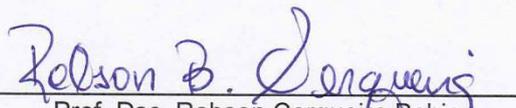
**2016**

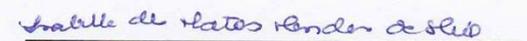
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
COLEGIADO DE MEDICINA VETERINÁRIA  
CCA106 – TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

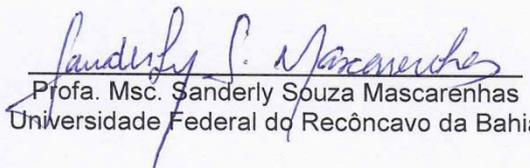
COMISSÃO EXAMINADORA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

PAULO NATAN MORENO PEREIRA CASTRO

LEVANTAMENTO DE *SALMONELLA SPP.* EM CARÇAÇAS DE FRANGO  
PROVENIENTES DE ABATEDOUROS SOB O SERVIÇO DE INSPEÇÃO  
ESTADUAL NO ESTADO DA BAHIA, BRASIL

  
Prof. Dsc. Robson Cerqueira Bahia  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

  
Prof. Dsc. Isabella de Matos Mendes da Silva  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

  
Profa. Msc. Sanderly Souza Mascarenhas  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Cruz das Almas, 12 de fevereiro de 2016.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiro, a DEUS, por ter me concedido a minha família, que me deu a oportunidade de realizar meu sonho.

Aos meus pais, PAULO e JUSSARA, pelo amor incondicional e por ter dedicado suas vidas em prol da minha e dos meus irmãos.

À minha ESPOSA LORENA, pelo amor, pela companhia e por ter tido paciência durante todos esses anos.

Aos meus irmãos, TITA, LORE, EDSON por todo carinho, apoio e pelo incentivo a buscar meu caminho.

Ao meu orientador, Prof<sup>o</sup> ROBSON, pelos ensinamentos da profissão.

Aos amigos da República 668, por estarem sempre presentes nas horas de trabalho e alegria, pelo convívio durante a graduação.

Aos estagiários do LDI, em especial à VINÍCIUS E JULIANA que me ajudaram na organização, na execução e coleta dos dados experimentais.

“Crescer custa, demora, esfolta, mas compensa”.

É uma vitória secreta, sem testemunhas.

“O adversário somos nós mesmos”

(Martha Medeiros)

## RESUMO

Causada por *S. Pullorum*, a pulorose pode acometer aves em qualquer idade, porém é nas jovens que a doença apresenta alta mortalidade. Sinais clínicos em pintos incluem anorexia, diarreia branca bacilar, desidratação, fraqueza e morte, diminuiu a produção de ovos e a eclodibilidade. As galinhas são os hospedeiros naturais do *S. Gallinarum* agente do tifo aviário podendo acometer aves de qualquer idade caracteriza-se por causar septicemia e toxemia. As aves ficam quietas, prostradas, deitam-se, não comem, apresentam diarreia amarelo-esverdeada a esverdeada, observa-se queda de postura e em poucos dias podem chegar ao óbito. A morbidade e a mortalidade podem ser altas. O agente mais comum do paratifo é o *S. Typhimurium*. As aves jovens são mais susceptíveis. Essas salmonelas não são específicas de galinhas, porém adaptam-se muito bem ao trato intestinal de galinha e perus, podendo persistir no trato entérico e serem eliminadas nas fezes por várias semanas podendo invadir a corrente circulatória e disseminar para vários órgãos como ovário, baço, fígado e coração. Pesquisou-se a ocorrência de *Salmonella* spp. em carcaças de frangos condenados por septicemia em municípios da região do Recôncavo do Estado da Bahia com o intuito de contribuir com a geração de dados para a cadeia produtiva de carne avícola e os órgãos de fiscalização que monitoram o risco para saúde pública. Das 224 amostras de carcaças de frango analisadas, 113 (50,44%) cresceram em meio seletivo ágar sulfito de bismuto sugestivo para o isolamento de *Salmonella* spp. especialmente o sorovar *S. Typhimurium*. Dos isolados 27 (42,20%) de 64 amostras de intestino analisadas foi encontrado o mesmo resultado. Achados similares foram observados em 43 (55%) das 78 amostras de fígado analisadas e 43 (52,4%) das 82 amostras de pulmão. Denota-se que a frequência de achados é passível de gerar prejuízos para a indústria avícola e saúde pública.

Palavras-chave: *Salmonella*. Abate. Frango. Carcaça.

## **ABSTRACT**

*Caused by S. Pullorum, the pullorum disease can affect birds at any age, but it is the young people that the disease has a high mortality (BARROW; FREITAS NETO, 2011). Clinical signs in chickens include anorexia, bacillary white diarrhea, dehydration, weakness and death, decreased egg production and hatchability (OIE, 2012). Chickens are the natural hosts of S. Gallinarum typhus agent aviary can affect birds of any age is characterized by causing sepsis and toxemia. The birds are quiet, prostrate, lie down, do not eat, present yellow-green greenish diarrhea, there is egg drop and in a few days can get to death. Morbidity and mortality can be high (Berchieri JR; FREITAS NETO, 2013). The most common agent in paratyphoid is the S. Typhimurium. Young birds are more susceptible. Those salmonella are not specific to chickens, but adapt very well to the intestinal tract of chicken and turkey and may persist in the enteric tract and are shed in the stool for several weeks and can invade the bloodstream and spread to various organs such as ovaries, spleen, liver and heart (MACARI; MAIORKA, 2000). Researched the occurrence of Salmonella spp. in broiler carcasses slaughtered and marketed in municipalities in the Reconcavo region of Bahia state in order to contribute to the generation of data for the production chain of poultry meat and supervisory bodies that monitor the risk to public health. Of the 224 samples of chicken carcasses examined, 113 suggestive grown in selective medium for the isolation of Salmonella spp. or 50.44 %% of the samples. Of the 27 isolates (42.20%) 64-intestinal samples analyzed were found the same result. Similar findings were reported in 43 (55%) of the 78 liver samples analyzed, 43 (52.4%) of the 82 lung samples. Denotes that the frequency of findings is likely to lead to losses for the poultry industry and public health.*

*Keywords: Salmonella. Slaughter. Chicken. Carcass.*

## LISTA DE ILUSTRAÇÃO

Figura 1 – Amostras condenadas de fígado.....	29
Figura 3 – Preparo das amostras. Lavagem com solução Fisiológica.....	30
Figura 4 – Semeadura em Caldo Nutriente.....	30
Figura 5 – Crescimento de colônias sugestivas para <i>Salmonella</i> spp.....	31
Figura 6 – Prova bioquímica. Citrato e esculina.....	32
Figura 7 - Prova bioquímica. Fenilalanina.....	33
Figura 8 - Prova bioquímica. TSI.....	33
Figura 9 - Prova bioquímica. Motilidade.....	33
Figura 10 - Prova bioquímica. BHI e Caldo verde brilhante.....	33
Figura 11 – Colônias sugestivas para <i>E. Coli</i> .....	34

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1- Resultados obtidos no experimento, comparando as porcentagens de positivos em relação à quantidade de amostras analisadas.....	34
--	----

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	10
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	12
2.1 Agente Etiológico.....	12
2.2 Características morfológicas, cultivo e crescimento.....	13
2.3 Variação da espécie e variação antigênica.....	14
2.4 Formas de transmissão e fontes de infecção.....	15
2.5 Patogenia e resposta imune.....	16
2.6 Sinais clínicos.....	18
2.7 Características anatomopatológicas.....	19
2.8 Normas e regulamentos para linha de abate.....	19
2.9 Diagnóstico.....	22
3 OBJETIVOS.....	28
3.1 Objetivo geral.....	28
3.2 Objetivo específico.....	28
4. MATERIAL E MÉTODO.....	28
4.1 Área de estudo e descrição da amostra.....	28
4.2 Técnica de isolamento e identificação.....	29
4.3 Identificação bioquímica.....	31
5 RESULTADOS.....	34
6 DISCUSSÃO.....	35
7 CONCLUSÃO.....	37
8 REFERÊNCIAS.....	38

## 1 Introdução

Cerca de 150 mercados são importadores da carne de frango brasileira atualmente. Aproximadamente quatro milhões de toneladas ou um terço da produção nacional são exportadas. O investimento em tecnologia, no melhoramento genético, manejo e sanidade, contribuíram para determinar a terceira posição do país em produção mundial de carne de frango, chegando perto de doze milhões de toneladas por ano. O Estado da Bahia participa desse cenário com a fatia de 0,74% do abate de carne frango e 1,71% de produção de ovos (ABPA, 2015).

Tessari et al. (2008), preconiza que a salmonelose é dentre outras, a mais importante toxii infecção alimentar na indústria alimentícia, pela frequência na ocorrência de casos. *Salmonella* spp. é um dos principais patógenos que podem contaminar a carne de frango, devido às aves serem os principais reservatórios naturais dessa bactéria sendo responsáveis por uma variedade de doenças agudas e crônicas nessa espécie (SILVA; GIBBS, 2012).

A infecção por via oral nas aves ocorre em função da presença da bactéria no ambiente. A fase sistêmica da infecção tem início quando os leucócitos são atraídos para o sítio da infecção após a bactéria chegarem ao intestino e invadir as células epiteliais. Assim distribuem-se para diversos órgãos como o baço e o fígado onde poderemos isolar a bactéria. O ceco demonstra-se como principal local de colonização da *Salmonella* spp. em aves. Outra via importante para a infecção é a transmissão vertical, em que as galinhas positivas transmitem o microrganismo através do oviduto a sua progênie (MUNIZ, 2012).

Segundo dados do Ministério da Saúde, entre 2007 e 2014 foram registrados 450 surtos de doenças transmitida por alimentos (DTA) causadas pela *Salmonella* spp. durante esse período, um total de 13.165 pessoas adoeceram. Os surtos são relacionados principalmente ao consumo de alimentos contendo ovos crus (maionese) e carne de frango. Em 2013, houve um surto de infecção por salmonela que atingiu 18 estados dos EUA, onde pelo menos 278 pessoas adoeceram por ter ingerido frango contaminado (VASCONCELLOS, 2014).

De acordo com os cuidados na higiene no processo de abate e nos cuidados na manipulação das carcaças e do correto manejo na criação que se tem ocorrência em maior ou menor grau devido a problemas com contaminação por *Salmonella* spp. (MANI-LÓPEZ et al., 2012).

A Secretaria de Defesa Agropecuária por meio da Portaria nº 193, de 19 de setembro de 1994, institui o Programa Nacional de Sanidade Avícola, constitui-se em normas e diretrizes que contribuem para regulamentar a produção avícola e salvaguardar o plantel nacional que incluem a Instrução Normativa Nº 78, de 3 de Novembro de 2003, que aprova as Normas Técnicas para Controle e Certificação de Núcleos e Estabelecimentos Avícolas como livres de *Salmonella Gallinarum* e de *Salmonella Pullorum* e Livres ou Controlados para *Salmonella Enteritidis* e para *Salmonella Typhimurium* (BRASIL, 2009).

Os Ministérios da Saúde e da Agricultura através da portaria nº 1428/93, instituiu programas como o BPP (Boas Práticas de Produção) e a APPCC (Análise dos Perigos e Pontos Críticos de Controle) para inspeção do processo de produção da indústria de alimentos (CARDOSO; TESSARI, 2008).

As normas, as diretrizes, os padrões e as recomendações internacionais relacionados à qualidade e inocuidade dos alimentos podem ser encontrados no *Codex Alimentarius* que recomenda a ausência de qualquer sorovar de *Salmonella* spp. em 25 gramas da amostra analisada, incluindo carne de aves e ovos (BRASIL, 2012).

Tendo em vista a importância dos prejuízos econômicos causados na indústria de carne de frango e derivados, em consequência da mortalidade, da queda na produção de ovos, baixa conversão alimentar e perda de peso nas aves, bem como pela veiculação de *Salmonella* spp. aos humanos e seu impacto na saúde pública, torna-se necessário estudar a disseminação deste patógeno durante o processo de produção nos diferentes pontos da cadeia produtiva que servirá de base para introdução de políticas de controle da qualidade e gerenciamento de riscos permitindo adotar medidas de prevenção e redução dos prejuízos relacionados à *Salmonella* spp.

## 2 Revisão de Literatura

### 2.1 Agente etiológico

Daniel Elmer Salmon, bacteriologista e Theobald Smith, em 1885 isolaram e descreveram, pela primeira vez, o bacilo da peste suína em 1885, entretanto foi Gaffky que relatou os primeiros surtos de salmonelose humana em 1880 (GOMES, 2009).

*Salmonella* spp. é o gênero de maior relevância na família Enterobacteriaceae e na atualidade este é dividido em duas espécies *Salmonella enterica* e *Salmonella bongori*. *Salmonella enterica* é subdividida em seis subespécies: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica* (MOREIRA, 2012). Tendo sido descritos ao todo 2.587 sorovares. Os sorovares isolados com maior frequência em doença humana pertencem à *Salmonella enterica* subespécie *enterica*, com 1547 sorovares conhecidos (GUIBOURDENCHE et al., 2010).

De acordo com a especificidade do hospedeiro e do padrão clínico determinado as *Salmonellas* spp. serão divididas em três categorias: salmonelas altamente adaptadas ao homem incluindo *S. sorovar Typhi* e *S. sorovar Paratyphi A*, B e C, agentes da febre entérica (febres tifóide e paratifóide) e; salmonelas altamente adaptadas aos animais representadas por *S. sorovar Dublin* (bovinos), *S. sorovar Choleraesuis*, *S. sorovar Typhisuis* (suínos), *S. sorovar Pullorum* e *S. sorovar Gallinarum* (aves), responsáveis pelo tifo e paratifo em animais, REVOLLEDO (2008).

As salmonelas zoonóticas, que são as responsáveis por quadros de gastroenterite (enterocolite) e pelas doenças transmitidas por alimentos formam a terceira categoria e incluem a maioria dos sorovares que atinge tanto aos homens quanto aos animais. Estudos recentes estimam que existam 80,3 milhões de casos anuais de doenças de origem alimentar relacionada com *Salmonella* ssp. em todo o mundo (MAJOWICZ et al., 2010).

## 2.2 Características morfológicas e de cultivo

A maioria possui flagelos peritríquios, mas podem não ser móveis (LOUREIRO et al., 2010). Abrangem uma faixa de temperatura de 5°C a 46°C, entretanto, a temperatura ótima é de 35°C a 43°C. Crescem em pH entre 3,8 a 9,5, sendo 7 o pH ideal (GERMANO, 2008).

São bastonetes Gram negativos, geralmente móveis, capazes de formar ácido e, na maioria das vezes, gás a partir da glicose, com exceção de *S. Typhi*, *S. Pullorum* e *S. Gallinarum* ( $\leq 5\%$  produzem gás). Também fermentam arabinose, maltose, manitol, manose, ramnose, sorbitol, trealose, xilose e dulcitol. São oxidase negativa, catalase positiva, indol, Voges-Proskauer – VP, Vermelho de Metila – VM, malonato e ureia negativa. Produzem gás sulfídrico a partir da redução do enxofre por ação da enzima cisteína desulfidrase. Apresentam ainda como características metabólicas a capacidade de descarboxilação dos aminoácidos lisina e ornitina, redução de nitrato a nitrito e utilização do citrato como única fonte de carbono, podendo ocorrer variações em função do sorovar e/ou da subespécie. *S. Pullorum* não fermenta o dulcitol e *S. Gallinarum* não descarboxila ornitina, sendo ambas imóveis. *S. Typhi*, *S. Pullorum* e *S. Gallinarum* não produzem gás a partir da fermentação da glicose (BRASIL, 2011).

A destruição do agente através do calor depende de vários fatores, mas está principalmente relacionado ao substrato e ao sorotipo envolvido. Não há multiplicação em temperatura de refrigeração (abaixo de 7°C) para a maioria dos sorotipos, sendo prontamente destruídas a temperaturas acima de 55°C. As salmonelas são destruídas por pasteurização, mas teores elevados de gordura e baixas atividade de água (aW) reduzem a eficácia dos tratamentos térmicos (GOMES, 2015).

Salmonelas são capazes de resistirem por nove meses sob solo úmido, na água e em insumos para alimentação animal. Essas enterobactérias são sensíveis à luz solar e aos desinfetantes mais utilizados nas indústrias tais como fenóis, clorados e iodados. São capazes de permanecerem viáveis por 13 meses a -21°C no ambiente. São destruídas a 60°C em cinco minutos (OLIVEIRA, 2000).

### 2.3 Variação da espécie e variação antigênica

A identificação do gênero é definida de acordo com suas características bioquímicas, sorológicas e antigênicas. Sendo a divisão de seus sorovares baseada na composição de seus antígenos de superfície, que são os antígenos somáticos “O”, flagelares “H” e capsulares “Vi”, estes encontrados somente nos sorovares *Salmonella enterica* sorovar Dublin, *Salmonella enterica* sorovar Typhi e *Salmonella enterica* sorovar Paratyphi C.

Os antígenos O designados por algarismos arábicos (1, 2, 4 etc.) caracterizam os sorogrupos de *Salmonella* spp., enquanto os antígenos H são designados por letras minúsculas do nosso alfabeto (fase 1) e por algarismos arábicos (fase 2). Como o número de antígenos flagelares é superior aos números de letras do alfabeto, a letra z é utilizada com vários expoentes numérico (z<sub>4</sub>, z<sub>6</sub>, z<sub>13</sub>, z<sub>15</sub>, z<sub>23</sub>, z<sub>24</sub>, z<sub>28</sub>, z<sub>32</sub>, z<sub>35</sub>, z<sub>45</sub>, z<sub>47</sub>, z<sub>50</sub> etc.). O antígeno Vi é de natureza polissacarídica está presente em apenas três sorovares de *Salmonella* (S. sor. Typhi, S. sor. Paratyphi C e S. sor. Dublin), Ferreira; Campos (2008). Sua taxonomia é definida conforme proposto pelo esquema Kauffmann-White (SILVA et al., 2007).

Rabsch (2002), alerta para o fato que além da identificação faz-se necessário aprimorar a diferenciação dentro do sorotipo correspondente; para tanto são utilizadas diversas técnicas de subtipagem, podendo-se destacar dentre elas a fagotipagem, utilizada principalmente para cepas que causam. De acordo com sua adaptação ao hospedeiro, o gênero pode ser classificado como salmonelas adaptadas ao homem, adaptadas aos animais e zoonóticas, estas podendo causar doença tanto em homens quanto em animais (RODRIGUES, 2011).

## 2.4 Formas de transmissão e fontes de Infecção

*Salmonella* spp. entra numa granja através das aves infectadas, dos fômites contaminados (equipamentos, roupas, veículos, água, alimentos), do homem, das aves silvestres, e de outros integrantes da cadeia epidemiológica. A severidade e o curso da doença variam de acordo com os fatores ambientais, do grau de exposição e da presença de infecções secundárias. As aves se infectam via oral. A ração e sua matéria prima, principalmente as de origem animal como farinha de carne, de sangue, geralmente apresentam, altas taxas de contaminação por *Salmonella* spp. (BACK, 2010).

São patógenos das espécies de mamíferos domésticos e de répteis, podendo, infectá-los cronicamente, fazendo-os portadores assintomáticos, eliminando a bactéria nas fezes. São portadores do agente roedores, moscas, baratas, besouros que agem como vetores da bactéria contaminando lotes sucessivos de aves (BERNDT et al., 2006).

Os sorovares de maior ocorrência em carcaças de aves no Brasil são: *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Derby*, *S. Heidelberg*, *S. Senftenberg*, *S. Agona* e *S. Mbandaka*. A *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium* e são de grande importância para a saúde pública (BACK, 2010). Das salmonelas paratíficas, a *S. Enteritidis* além de ter o potencial de causar doença e mortalidade em aves jovens, ainda é uma das mais perigosas para o homem (BACK; ISHIZUKA, 2010). O consumo de carne e ovos contaminados por *S. Enteritidis* é a principal fonte de infecção humana (THOMAS et al., 2009).

Através do aparelho reprodutor contaminado (ovário, oviduto) poderá haver transmissão vertical. Na cloaca também poderá ocorrer à contaminação do ovo através da casca. Dando o início ao ciclo vertical que se estabelece pela contaminação progressiva da cadeia produtiva até o produto final no frigorífico. O ciclo horizontal se estabelece nas empresas avícolas através do consumo de rações positivas pelas aves. Normalmente a fábrica de rações se contamina pelo uso de alguma matéria-prima, geralmente de origem animal, contaminada por salmonela (HERMANN, 2012).

## 2.5 Patogenia e resposta Imune

As complicações decorrentes da infecção por *Salmonella* ssp. variam desde cólicas gastrointestinais brandas até uma grave infecção sistêmica em função do sorovar envolvido e da expressão dos fatores de virulências, bem como do estado de saúde do hospedeiro. Todavia faz-se necessário que esta se encontre em ambiente adequado para que possa se estabelecer, replicar e expressar seus fatores de virulência (OCHOA; RODRÍGUEZ, 2005). Neste caso, sua sobrevivência e replicação se dará em função da ativação dos fatores de virulência após a invasão dos fagócitos e da passagem pela barreira mucosa epitelial. Tendo sua disseminação facilitada pela migração fagocitária para os órgãos do sistema reticuloendotelial como o fígado e o baço (OHL; MILLER, 2001).

*Salmonella* spp. possui a capacidade de modular a expressão dos seus genes de virulência de acordo com os mecanismos de defesa do hospedeiro e resistir ao pH estomacal, ao aumento de temperatura, a baixa tensão de oxigênio, a alta osmolaridade, a ação da bile, o peristaltismo, as lisozimas, as lactoferrinas, a microbiota local. (OCHOA; RODRÍGUEZ, 2005; BESSA, 2006).

Durante a fase inicial da patogênese as fímbrias desempenham um papel importante na ligação e colonização intestinal em camundongos, pois elas se aderem melhor à mucosa quando comparado às cepas sem fímbrias (GOMES, 2008).

*Salmonella* spp. sinais às células epiteliais induzindo alteração do citoesqueleto promovendo uma conformação pregueada (ruffling), resultando na internalização da bactéria no interior de uma vesícula endocítica, mecanismo conhecido como *trigger*. A internalização é desencadeada por um grupo de genes nomeados *inv* preservados em *Salmonella* spp. presentes na maioria dos sorovares (DARWIN; MILLER, 1999; GOOSNEY et al., 1999).

As células epiteliais estimuladas pela presença do patógeno produzem interleucina-8 e um quimioatratador epitelial que estimulam o processo de inflamação e migração dos leucócitos. Estes produzem prostaglandinas induzindo aumento na atividade da adenilato ciclase nas células intestinais, inibindo absorção do Na<sup>+</sup>,

aumentando secreção do cloro ( Cl<sup>-</sup>), promovendo diarreia que pode ser agravada pela produção de enterotoxinas (DARWIN; MILLER, 1999).

As citotoxinas produzidas pelas *Salmonella* spp. destroem as células M e promovem a invasão de enterócitos adjacentes, induz apoptose de macrófagos ativados e fagocitose em macrófagos não ativados, sendo transportados para o fígado e o baço, dando início a infecção sistêmica (MONACK et al., 2000).

De acordo com Terzolo (2011), as aves infectadas assumem a condição de portadoras, pois o patógeno pode permanecer no interior dos macrófagos e das células do sistema mononuclear fagocitário sendo eliminado pelas fezes por período indeterminado, podendo permanecer viáveis por muito tempo.

Segundo Morgules (2005), o sistema imune das aves pode ser dividido em: órgãos linfoides centrais composto por bursa de Fabrícus e timo, e pelos órgãos linfoides periféricos como o baço, medula óssea e glândula de Harder, pelos tecidos linfoides associados ao sistema digestório (GALT) e por tecidos linfoides associados ao sistema respiratório (BALT).

Como descrito por Montassier (2009), a bursa é um divertículo da região dorsal média do proctodeum (parte distal da cloaca). É uma estrutura exclusiva das aves, constituída internamente de pregas de diferentes tamanhos, o lúmen interno é delimitado por um epitélio cúbico e possui folículos linfoides, que são a principal estrutura onde ocorrem fases importantes do desenvolvimento dos linfócitos B. O timo é um órgão linfo-epitelial responsável pelo desenvolvimento e amadurecimento dos linfócitos T. Durante a fase embrionária e após a eclosão, os linfócitos B e T migram dos órgãos linfoides centrais para as regiões linfoides periféricas. Ainda de acordo o mesmo autor o baço pode ser dividido em duas áreas de constituição distintas: a polpa vermelha composta de sinusóides contendo sangue e tecido linfoide difuso; e pela polpa branca composta de tecido linfoide denso que formam o tecido linfoide periarterial onde há predominância das células T. Localizada atrás do globo ocular a Glândula de Harder é constituída de tecido linfoide.

De acordo com Jin et al. (1998) a bursa de fabrcius, as placas de peyer, as tonsilas cecais compõem o sistema (GALT) que são os tecidos associados ao sistema digestivo, e estes possuem a capacidade de estimular as células B e T

promovendo o desenvolvimento da imunidade geral e específica através da captura de antígenos presentes na luz intestinal. Estas células são precursoras de IgA que bloqueiam os receptores e diminuem a quantidade de bactérias na luz intestinal).

Abbas e Litchman (2005) descrevem que nas aves há dois tipos de resposta imune a saber: a resposta imune inata, representada pelos macrófagos e heterófilos; e resposta imune adquirida, que se subdivide em imunidade passiva (transferência de anticorpos de uma ave imunizada para outra, por exemplo, da matriz para o pintinho) e imunidade ativa (exposição da ave aos antígenos). A bursa de Fabricius é responsável pelo controle da imunidade humoral secretando anticorpos pelos linfócitos B.

## 2.6 Sinais clínicos

*Salmonella* spp. é oportunista e aguarda uma situação de desequilíbrio na microbiota intestinal para se manifestar podendo levar a alterações intestinais e septicêmica, porém geralmente colonizam sem aparecimento de sinais clínicos, sem nenhum efeito maléfico (ANDREATTI-FILHO, 2007). Possuem predileção pelo trato intestinal, mas podem causar doença sistêmica, acompanhadas por lesões entéricas (PORTERJR, 1998).

O alerta para o surto é dado quando as aves começam a apresentar sonolência, anorexia severa e aumento do consumo de água, diarreia aquosa profusa com emplastamento das penas ao redor da cloaca e tendência das aves em amontoarem-se junto à fonte de calor. Como sinais clínicos importantes temos a cegueira e conjuntivite (BACK, 2010).

Nas aves, a *Salmonella* spp. poderá desenvolver três patologias diferentes a saber: a pulrose, cujo agente é a *Salmonella enterica* subespécie enterica sorotipo Pullorum; o tifo aviário tem como agente a *Salmonella enterica* sorovar Gallinarum; e o paratifo aviário que é causada por qualquer outra *Salmonella* spp. exceto as mencionadas. No paratifo causado por *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Thyphimurium pode ocorrer diarreia profusa que, por sua vez promove empastamento da cloaca. As lesões macroscópicas não são patognomônicas, pode

ocorrer focos necróticos na mucosa intestinal, enterite, tiflite com espessamento da mucosa cecal, com conteúdo caseoso de coloração branca (BERCHIERI JÚNIOR; FREITAS NETO, 2009).

## **2.7 Características anatomopatológicas**

Por não serem patognomônicas as lesões podem até sugerir, mas nunca caracterizar a doença. Nas aves jovens as cepas mais agressivas desenvolvem bacteremia aguda levando a ave à morte rapidamente sem manifestação de alterações macroscópicas. Em quadro subagudo podem ser observados focos necróticos na mucosa intestinal e enterite. Tiflite caracterizada por espessamento da mucosa cecal com conteúdo caseoso de coloração branco-amarelada quando da infecção por *S. enteritidis* ou *typhimurium*. Espleno e hepatomegalia, acompanhadas por petéquias ou sufusões e focos necróticos principalmente no fígado, seguindo-se perihepatite e pericardite com aderência podem ser observados. Gema não absorvida, coagulada e caseosa pode ser encontrada em pintos mortos, além de onfalite, artrite e aerosaculite. A degeneração ovariana, constatada através do achado de folículos ovarianos hemorrágicos e/ou murchos, é lesão passível de ser encontrada em aves adultas, assim como pericardite, perihepatite, aerosaculite e peritonite (ANDREATTI-FILHO, 2007).

## **2.8 Normas e regulamentos para linha de abate**

Para alcançar a posição de liderança no mercado avícola mundial, o processamento e a inspeção industrial sofreram evoluções no intuito de adequar os produtos às exigências do mercado (JACOBSEN; FLORES, 2008). Isto incluiu um rígido controle sanitário desde o momento em que as aves chegam à plataforma de recepção, até a obtenção do produto final, a fim de minimizar o risco de incidência de doenças transmitidas por alimentos e de garantir a qualidade aos produtos (SCHIMDT; FIGUEIREDO, 2008).

Considerando a importância da produção avícola, no contexto nacional e internacional, e observando o processo de globalização, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento implementou o Programa Nacional de Sanidade Avícola (BRASIL, 1994). O objetivo do PNSA é normatizar as ações de acompanhamento sanitário das aves e estabelecer a cooperação entre as instituições públicas e privadas. Os programas sanitários do PNSA estão de acordo com normas sanitárias da Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), englobando os programas para a Doença de Newcastle, Salmonelas e Micoplasmas.

Na legislação referente ao PNSA, destaca-se a Instrução Normativa nº 70, de 10 de outubro de 2003, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento institui o Programa de Redução de Patógenos – Monitoramento Microbiológico e Controle Sanitário de *Salmonella* spp. em Carcaças de Frangos e Perus (BRASIL, 2003a). A IN nº 78, de 03 de novembro de 2003, aprova as normas técnicas para o controle e certificação de núcleos e estabelecimentos avícolas como livres de *Salmonella Pullorum* e livres ou controlados para *Salmonella Enteritidis* e para *Salmonella Typhimurium* (BRASIL, 2003b).

O controle nas indústrias e estabelecimentos beneficiadores é feito por meio da implementação das Boas Práticas de Fabricação e do sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle – APPCC (FORSYTHE, 2002). Este passou a ser exigido, no Brasil, pela Portaria 1.428, de 02 de dezembro de 1993, do Ministério da Saúde (BRASIL, 1993), aplicando-se, também, a todos os estabelecimentos que desenvolvam atividades relacionadas à alimentação. A legislação preconiza que produtores de gêneros alimentícios devem salvaguardar amostras de alimentos por 72 horas e estas devem estar à disposição das autoridades sanitárias para as eventuais análises laboratoriais necessárias, como na ocorrência de surtos (DDTHA, 2005). A habilidade técnica para o monitoramento e detecção de *Salmonella* spp. e outros patógenos deve ser continuamente aperfeiçoada uma vez que a tolerância legal à presença *Salmonella* spp. é zero. Esse é um desafio aos países exportadores (JR, et al., 2004).

A inspeção sanitária é compulsória em todos os estabelecimentos e legalizada desde a década de 1950 no Brasil (BRASIL, 1952). O exame *post mortem* é realizado individualmente ao longo da calha de evisceração, através do exame

macroscópico das carcaças e vísceras. A Portaria N° 210, de 10 de novembro de 1998, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), define os destinos e critérios de julgamento das aves, sendo passíveis de condenação as carcaças na inspeção post mortem com: abscessos, aerossaculite, processos inflamatórios, tumores, aspecto repugnante, caquexia, contaminação, contusão, fraturas, dermatoses, escaldagem excessiva, magreza, evisceração retardada, septicemia, síndrome ascítica e doenças especiais (BRASIL, 1998; GOMIDE, 2006).

Existem três linhas de inspeção nos matadouros avícolas. Na primeira, a linha A, é feita a inspeção interna da carcaça, através da visualização da cavidade torácica e abdominal (celomática) e dos órgãos a elas pertencentes. Nesta linha, as carcaças com problemas sanitários passíveis de condenação são retiradas e encaminhadas ao DIF (Departamento de Inspeção Final), para que sejam feitos os cortes e as condenações totais ou parciais; as vísceras são retiradas e condenadas. As carcaças que não apresentam problemas para serem encaminhadas ao DIF continuam seguindo pela nórea e passam pela linha B, onde é feita a inspeção das vísceras (fígado e coração) através de visualização, palpação, percepção de odores e cortes. As vísceras que apresentam problema são condenadas e colocadas em chutes, que as encaminham até a fábrica de subprodutos. A última linha de inspeção, linha C, é onde são avaliadas as superfícies externas das carcaças, como pele e articulações, sendo retiradas fraturas, contusões e demais lesões ainda existentes (BRASIL, 1998).

Segundo Olivo (2006), apenas a colibacilose pode ser detectada na inspeção post mortem com facilidade. Geralmente, as lesões constatadas nos órgãos motivam um novo detalhamento do exame da carcaça, devendo-se seguir o emprego de exames laboratoriais complementares, como o exame bacteriológico, para identificação do agente etiológico (GOMIDE, 2006). Andreatti Filho (2007) ressalta que esses dados são importantes para proporcionar informações epidemiológicas para definição de fontes comuns de infecção.

Armendaris (2006) afirma que a quantificação correta dos achados de inspeção post mortem pode gerar mais benefícios que a própria retirada do processo das carcaças e vísceras com alterações, por possibilitar a tomada de ações preventivas sobre a matéria prima.

## 2.9 Diagnóstico

De acordo com a Portaria nº126 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 de *Salmonella* spp. determina que o mesmo deverá ser realizado por meio do método bacteriológico tradicional, com isolamento e identificação do agente.

A caracterização sorológica (sorovar/sorotipo), é baseada na reação de aglutinação dos antígenos somáticos (O) e flagelares (H) de *Salmonella*, utilizando-se anti-soros polivalentes e monovalentes. Soroaglutinação rápida em placa (SAR) é um método rápido no diagnóstico utilizado de anticorpo anti *Salmonella* Pullorum rotineiramente utilizado a campo e comercialmente disponibilizados em forma de kits (BACK, 2010).

Uma técnica comumente utilizado no diagnóstico de *Salmonella* spp. é a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), pois seu tempo de execução e sua alta especificidade são considerados satisfatórios quando comparado a outras metodologias. Esta é realizada em três etapas: desnaturação, anelamento e extensão. Tais etapas são realizadas em ciclos, sendo repetidos em média 35 vezes. Cada etapa deste ciclo é executada em uma temperatura ideal (VIANEZ, 2007). A análise do microrganismo é possível pois utiliza-se um padrão que possui descendentes de uma cultura pura, que contém apenas uma espécie de organismo que se origina de uma mesma célula parental (GANDRA et al., 2008).

O diagnóstico presuntivo da pulrose é baseado no histórico do lote, evolução clínica, sintomas e lesões. A presença de anticorpos circulantes reforçam o diagnóstico presuntivo, mas é importante considerar que na prova de soroaglutinação rápida, pode-se observar reações cruzadas com outras salmonelas do grupo D, principalmente *S. Gallinarum* e *S. Enteritidis*. Os testes sorológicos mais utilizados são aglutinação rápida em placa com sangue total ou soro e ELISA. A soroaglutinação rápida em placa é o teste mais utilizado, e podem ser realizados também os testes de soroaglutinação lenta em tubos e microaglutinação. O ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay), detecta portadores de respostas

sorológicas ao agente da pulorose e tifo aviário. Esses testes podem apresentar respostas falso positivas ou positivos a outras salmonelas, especialmente às do mesmo grupo da *S. Pullorum* e *S. Gallinarum*, além de ser um teste dispendioso. O diagnóstico definitivo é realizado pelo isolamento e identificação da *S. Pullorum*. O material para análise bacteriológica pode ser colhido do baço, fígado e ceco (BACK, 2010).

O diagnóstico do tifo aviário baseia-se nos achados clínicos, exames laboratoriais e anatomopatológicos. As aves infectadas por períodos superiores há duas semanas são positivas no teste de pulorose. Os resultados podem ser confundidos com aves infectadas por *S. Pullorum* ou por outra salmonela que possua antígenos em comum, com outras pertencentes ao grupo D. O teste ELISA pode apresentar resultados mais específicos, mas sem diferenciar a resposta entre aves infectadas por *S. Gallinarum* e *S. Pullorum*. O diagnóstico definitivo compreende o isolamento e a identificação do agente. O procedimento bacteriológico é o mesmo utilizado para *S. Pullorum* e o comportamento dessas duas salmonelas é muito semelhante (BERCHIERI JÚNIOR; FREITAS NETO, 2012). Contudo, existem cepas com comportamento bioquímico atípico, o que dificulta a diferenciação por esse método. Estudo molecular recente com os dois sorotipos, utilizando técnica de tratamento enzimático com a enzima de restrição Eco RI (produzida pela bactéria *Escherichia coli*), permitiu diferenciar *S. Gallinarum* e *S. Pullorum*, mesmo quando amostras bacterianas apresentavam comportamento bioquímico atípico. Estas enzimas reconhecem e atuam sobre sequências específicas de DNA (RIBEIRO et al., 2009).

O diagnóstico do paratifo aviário é baseado no isolamento e identificação do agente a partir do cultivo de fígado, bile, baço, gema, papo, tonsilas cecais e conteúdo intestinal (BACK, 2010). O isolamento de *Salmonella* spp. também pode ser feito de material que pode estar veiculando a bactéria, como as farinhas de origem animal e ração. A sorologia identifica aves que tem ou tiveram contato com salmonela paratífica. Provas de aglutinação, microaglutinação e ensaios imunoenzimáticos são capazes de detectar anticorpos por vários meses após a infecção. Caso essas aves sejam positivas, o teste deve ser comprovado com isolamento e identificação da salmonela. Para diagnóstico diferencial é preciso o

isolamento e identificação do agente para diferenciar o paratifo das outras salmoneloses, pulrose e tifo aviário, além de enfermidades bacterianas septicêmicas (BERCHIERI JÚNIOR, 2000).

### **Meios de Cultura**

De acordo com Brasil, (2013), Vieira et al., (2012), Oliveira, (2012) e Lázaro et al., (2008);

**O caldo bile verde brilhante 2%** - é um dos meios mais utilizados para a detecção de bactérias coliformes na água, esgotos, alimentos leite e derivados. Este meio também é recomendado para enumeração de coliformes pela técnica do número mais provável. A digestão péptica de tecido animal serve como fonte essencial de nutrientes. A lactose é o carboidrato fermentável. A fermentação da lactose produz ácido que muda a cor do corante verde brilhante para amarelo. O gás produzido durante a fermentação fica retido nos tubos invertidos de Durham. A produção de gás confirma a presença de coliformes.

**Ágar Nutriente** - Os meios nutrientes são meios de cultura básicos usados para manutenção de microrganismos e cultivo de microrganismos fastidiosos quando o meio é enriquecido com soro ou sangue. Sua fórmula relativamente simples tem sido mantida e amplamente usada em exames microbiológicos de uma variedade de materiais, sendo ainda recomendada em métodos-padrão. O digesto péptico de tecido animal e os extratos de carne bovina e de levedura fornecem os compostos nitrogenados, carbono e vitaminas necessários, bem como alguns elementos-traço necessários para o crescimento das bactérias. O cloreto de sódio mantém o equilíbrio osmótico do meio.

**BHI** - Agar Infusão de Cérebro e Coração é um meio sólido recomendado para o cultivo de bactérias patogênicas exigentes, leveduras e bolores. Este é um meio

altamente nutritivo que pode suportar um crescimento significativo de uma grande variedade de microorganismos. Pode ser altamente enriquecido pela adição de sangue ou seletivo pela adição de diferentes antibióticos. Este é um meio de cultura de propósito geral usado para o isolamento primário de bactérias aeróbicas de amostras clínicas. Protease peptona e as infusões presentes no meio servem como fontes de carbono, nitrogênio, vitaminas, aminoácidos e fatores essenciais ao crescimento. A dextrose é a fonte de energia. O cloreto de sódio mantém o equilíbrio osmótico do meio e o fosfato dissódico promove o tamponamento. O sangue de ovelha defibrinado adicionado ao meio basal fornece fatores de crescimento essenciais para a maioria dos fungos fastidiosos.

**Ágar sulfito de bismuto** - recomendado para o isolamento seletivo e identificação preliminar de *Salmonella* spp. sorotipo Typhi e outras *Salmonella* de amostras patológicas, esgotos, águas de abastecimento, alimentos, etc. Dos diversos meios utilizados para o isolamento e identificação preliminar de *Salmonella* spp. especificamente *Salmonella* Typhimurium, o ágar sulfito de bismuto é o mais produtivo. *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium* normalmente crescem como colônias pretas com um brilho metálico ao redor, resultante da produção de sulfeto de hidrogênio e da redução do sulfito para sulfeto férrico preto. *Salmonella* Paratyphi A cresce como colônias verdes claras. A digestão péptica de tecido animal e o extrato de carne servem como fontes de carbono, nitrogênio, vitaminas e fatores essenciais para o crescimento. A dextrose é a fonte de carbono. O fosfato dissódico mantém o equilíbrio osmótico. O indicador sulfito de bismuto, juntamente com o verde brilhante, inibe as enterobactérias gram-positivas e negativas. O sulfato ferroso ajuda na detecção da produção de sulfeto de hidrogênio.

### **Provas Bioquímicas**

**Citrato de Simmons** - Este teste determina se a bactéria é capaz de utilizar o citrato de sódio como única fonte de carbono para o seu metabolismo e crescimento. Deve ser utilizado o meio Citrato de Simmons, composto por citrato de sódio, fosfato de

amônia e por azul de bromotimol. Com a facilidade do transporte de citrato pela citrato-permease, ela é utilizada pela citrase com produção de hidróxido de amônia, o que eleva o pH fazendo com que a reação torne-se azul. Nesse teste, utilizam-se tubos com meio inclinado para ter mais acesso ao oxigênio, necessário para a utilização do citrato. O CO<sub>2</sub> produzido reage com o sódio do citrato formando carbonatos de reação alcalina.

**Catalase** - É uma enzima que decompõe o peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) em água e oxigênio. A prova é considerada positiva quando há borbulhamento ou efervescência devido à liberação do oxigênio.

**Bile Esculina** - É baseada na capacidade de algumas bactérias hidrolisarem esculina em presença de bÍlis. A esculina é um derivado glicosídico da cumarina. As duas moléculas do composto (glicose e 7-hidroxycumarina) estão unidas por uma ligação éster através do oxigênio. A esculina é incorporada em um meio contendo 4% de sais biliares. As bactérias Bile-Esculina positivas, são capazes de crescer em presença de sais biliares. A hidrólise da esculina no meio resulta na formação de glicose e esculetina. A esculetina reage com íons férricos (fornecidos pelo composto inorgânico do meio - o citrato férrico), formando um complexo negro. Para identificação dos *Enterococcus* spp., que são Bile-Esculina positiva e identificação de bacilos Gram negativos não fermentadores e enterobactérias. Positivo quando apresenta enegrecimento em pelo menos metade ou mais do meio.

**Ágar Fenilalanina** - Verifica a capacidade da bactéria de produzir ácido fenilpirúvico a partir da fenilalanina por ação enzimática. Diferencia gêneros e espécies de enterobactérias. A solução de cloreto férrico 10% é utilizada para revelar a atividade da enzima fenilalanina desaminase no meio de fenilalanina. Quanto á leitura dos resultados; cor original do meio: amarelo palha. Positivo: formação de uma coloração esverdeada na superfície do meio após a adição do cloreto férrico. Negativo: o meio permanece inalterado.

**Meio Tríplice Açúcar Ferro (TSI)** - é usado para a diferenciação de bacilos entéricos patogênicos gram-negativos através de sua capacidade de fermentar dextrose, lactose e sacarose e pela produção de sulfureto de hidrogênio. A caseína enzimática hidrolisada, o digesto péptico de tecido animal e os extratos de levedura e carne fornecem compostos nitrogenados, sulfúricos, complexo de vitamina B e outros elementos. O cloreto de sódio mantém o equilíbrio osmótico do meio. A lactose, a sacarose e a dextrose são carboidratos fermentativos. Tiosulfato de sódio e ferro ou íons ferrosos fazem o sistema indicador de H<sub>2</sub>S. O vermelho de fenol é indicador de pH. Organismos que fermentam glicose produzem uma variedade de ácidos, mudando a cor do meio de vermelho para amarelo. Portanto, a formação de uma área alcalina na inclinação rampa (vermelha) e de uma área ácida (amarela) no fundo do tubo após a incubação, indica que o microorganismo é fermentador de glicose, mas não é capaz de fermentar lactose e/ou sacarose. Bactérias que fermentam lactose e/ou sacarose, na adição de glicose, produzem grandes quantidades de ácido, causando a não reversão do pH naquela região e portanto os tubos exibem a coloração amarela tanto na inclinação (rampa) quanto no fundo devido ao pH ácido. A produção de gás (CO<sub>2</sub>) é detectada pela presença de bolhas. O H<sub>2</sub>S combina-se com íons de ferro e sais de ferro para produzir o precipitado preto insolúvel de sulfeto de ferro. A redução do tiosulfato ocorre apenas em ambiente ácido e o enegrecimento ocorre normalmente no fundo do tubo.

**Motilidade** - A prova da motilidade indica, indiretamente, a produção de flagelos. Não é uma prova bioquímica, e sim fisiológica, mas auxilia na identificação de bactérias. A prova é efetuada inoculando-se, em linha reta, através da técnica da puntura (com agulha), 2/3 de um meio semissólido. A prova indica motilidade quando os microrganismos crescem deslocando-se da linha de inoculação, turvando o meio. A prova é negativa quando os microrganismos ficam restritos ao local da inoculação sem, contudo, turvar o meio. Observação O objetivo da prova de motilidade é determinar se um microorganismo é móvel ou imóvel, ou seja, se tem ou não flagelo.

### **3 Objetivos**

#### **3.1 Objetivo geral**

Investigar a presença de *Salmonella* spp. em amostras de fígado, pulmão e intestino de frangos condenados com septicemia em um matadouro frigorífico sob regime de inspeção estadual na Bahia.

#### **3.2 Objetivo específico**

Correlacionar as condenações com os resultados positivos para *Salmonella* spp. em amostras de vísceras condenadas por septicemia.

Verificar se as características macroscópicas das vísceras condenadas são indicativas confiáveis de infecção por *Salmonella* spp.

### **4 Material e método**

#### **4.1 Área de estudo e descrição da amostra**

Entre os meses de abril e maio de 2015 foram coletadas 224 amostras de fígado (78), intestino (64) e pulmão (82), visualmente com alterações macroscópicas, oriunda de carcaças de frangos (*Gallus gallus*) condenadas na linha de inspeção por suspeita de septicemia, durante um período de 9 dias de abates. Perfazendo um total geral de 243 mil aves abatidas nesse período, proveniente de três matadouros frigorífico de aves e coelhos, sob inspeção estadual na Bahia, localizados na região do recôncavo baiano.

As amostras retiradas foram acondicionadas em coletores plásticos estéreis identificados e encaminhadas em caixa de isotérmicas com gelo para o Laboratório de Doenças Infecciosas (LDI) do Hospital Universitário de Medicina Veterinária da

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, localizado na cidade de Cruz das Almas, sendo processadas no mesmo dia da coleta.

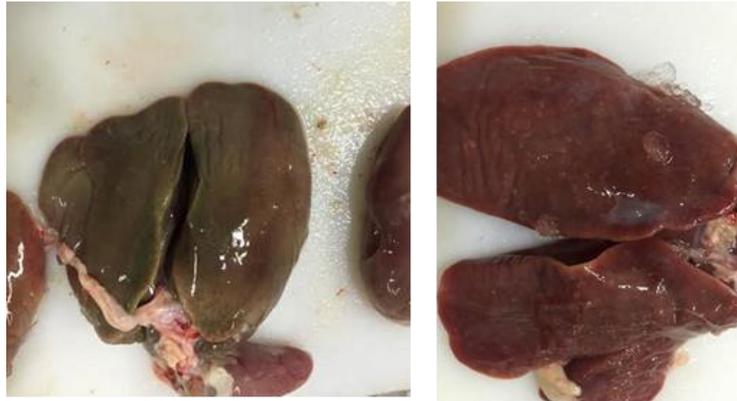
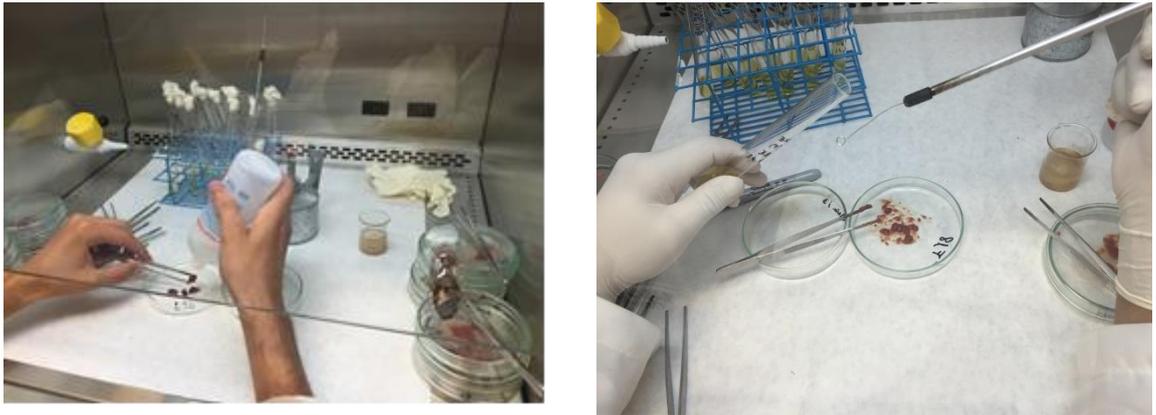


Figura 1– Fígados condenados. A) Coloração esverdeada. B) Presença de focos necróticos.

#### 4.2 Técnica de isolamento de identificação

No fluxo laminar, foram pesados  $1g \pm 0.1$  com uma margem de variação de 0,1 para mais ou para menos de fígado, intestino e pulmão de cada carcaça, numa balança analítica de precisão, em seguida os fragmentos foram higienizados e lavados com solução fisiológica estéril (Farmax 0,9%) externamente a fim de diminuir a contaminação externa e macerados em placas de petri estéreis individualmente.



**Figura 2– Preparo da amostra para cultivo. Lavagem com soro fisiológico.**

O macerado foi inoculado em 5ml de caldo BHI (infusão de cérebro e coração) HIMEDIA® M210-500g por meio de uma alça de platina e o inóculo foi levado à estufa bacteriológica, (Digital Timer Sterilifer) a 37°C. Após 24 horas o inóculo foi semeado no meio Agar nutriente e levado à estufa bacteriológica (Digital Timer Sterilifer), a 37°C, por 24-48 horas aproximadamente.



**Figura 3– Semeadura da amostra em meio Agar nutriente.**

No fim desse período, foi feita a avaliação das características das colônias, tais como: tamanho, coloração, contaminação presença ou ausência de crescimento misto e odor. Seguidamente foi realizado a coloração de Gram para observação das características morfotintoriais e em seguida da leitura para escolha do meio seletivo para inoculação.



Figura 4– Crescimento sugestivo de *Salmonella* spp. Observação de colônias pretas amarronzadas metálicas.

Foram utilizados dois meios de cultura: primeiro o caldo verde brilhante lactosado a 2% HIMEDIA®, utilizados para a detecção de bactérias coliformes nutriente levado à estufa bacteriológica (Digital Timer Sterilifer), a 37°C, por 24-48 horas aproximadamente. As colônias sugestivas foram semeadas no segundo, o ágar sulfite de bismuto HIMEDIA®, que é recomendado para o isolamento seletivo e identificação preliminar de *Salmonella* sorotipo Typhi e outras *Salmonella* de amostras patológicas, também levado à estufa bacteriológica (Digital Timer Sterilifer), a 37°C, por 24-48 horas aproximadamente. Posteriormente realizou nova coloração de Gram e seguiu-se para a realização das provas bioquímicas: catalase, citrato, esculina e fenilalanina.

### 4.3 Identificação bioquímica

A análise bioquímica foi realizada com as amostras plaqueadas nos meios seletivos caldo verde brilhante e sulfite de bismuto. As culturas foram utilizadas com

incubação de 24-48 horas, de modo a obter colônias metabolicamente viáveis. Para o teste Citrato foi inoculado em superfície com alça de platina em agulha, uma colônia em tubo de ensaio contendo 3ml do meio Agar Citrato Simmons HIMEDIA®.

Para a prova da catalase, colocou-se uma gota de peróxido de hidrogênio (água oxigenada) 3% sobre uma lâmina, Com auxílio de um fio bacteriológico, agregou-se a colônia em estudo na gota de peróxido de hidrogênio. A presença imediata de bolhas e a produção de efervescência indica a conversão do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em água e oxigênio gasoso.

Na prova da esculina, após pesar e hidratar o meio conforme instruções do fabricante, fundiu-se o meio e distribuiu 2,5 ml por tubo esterilizando em autoclave. Após retirar da autoclave, inclinou-se os tubos ainda quentes para que solidificassem com a superfície em forma de "bico de flauta" (ângulo de 45°). Estriou-se a superfície inclinada do meio e incubou a 35°C por 24 horas.

Aqueceu-se o ágar fenilalanina sob constante agitação até fundir o meio e ajustando o pH para 7,3 ±0,2. Após, distribui-se em tubos com tampas de rosca. Esterilizando em autoclave. Retirando os tubos da autoclave e inclinando-os ainda quentes para que solidifiquem com a superfície em forma de bico de flauta (ângulo 45°). Deixando solidificar em temperatura ambiente. Foi feito um inóculo denso de colônia pura. Incubando a 35°C por 24 horas. Adicionou-se diretamente o cloreto férrico no tubo inoculado, distribuindo o reagente sobre a superfície do meio.



Figura 5– Resultado das provas bioquímicas. A) Citrato. B) Esculina.

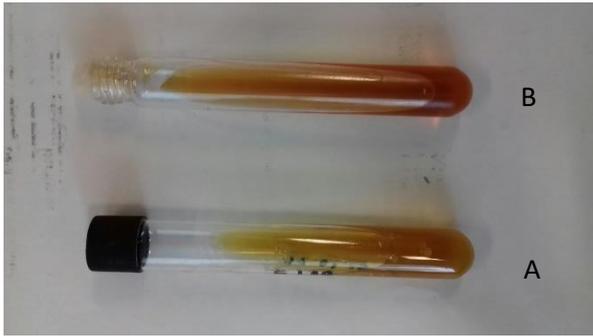


Figura 8 - Resultados das Provas bioquímicas TSI. A) positivo. B) negativo.



Figura 7 - Resultados das Provas bioquímicas. Fenilalanina. A) positivo. B) negativo



Figura 9 - Resultados das Provas bioquímicas. Motilidade. A) positivo. B) negativo.

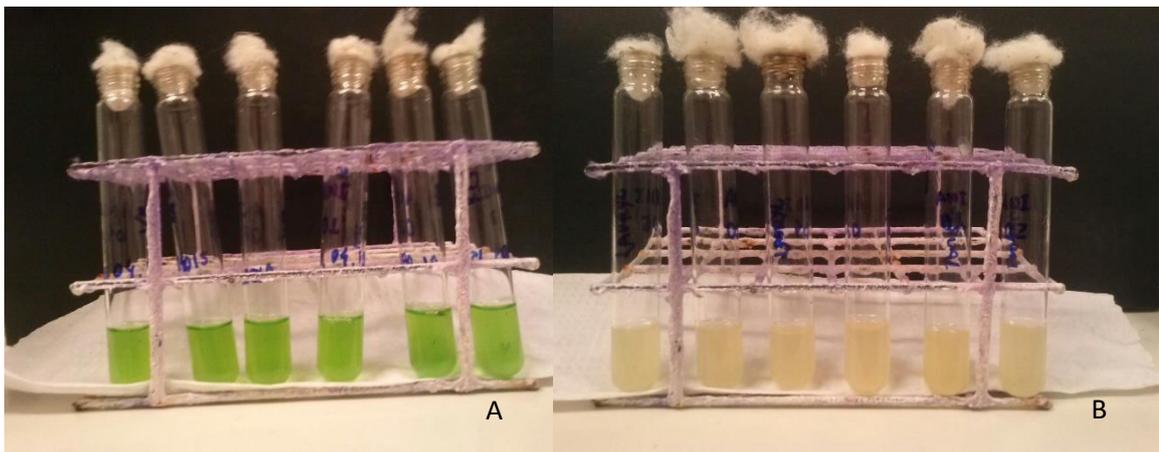


Figura 10 - Resultados das Provas bioquímicas. A) Caldo Verde Brilhante. B) Caldo BHI

## 5 Resultados

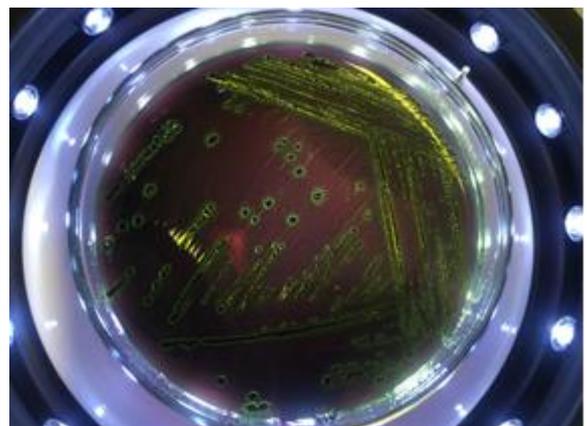
Das 224 amostras analisadas, 113 (50,44%) sugerem resultados compatíveis para o isolamento de *Salmonella* spp. Sendo 27(42,20%) das 64 amostras de intestino, 43 (55%) das 78 amostras de fígado e 43 (52,4%) das 82 amostras de pulmão. As amostras sugestivas para *Salmonella* spp. serão em uma segunda etapa, enviadas para diagnóstico confirmatório do agente através do método de diagnóstico molecular Polymerase Chain Reaction (PCR), possibilitando desta maneira identificar os possíveis sorovares.

**Tabela 1 Percentual de isolamento sugestivo para *Salmonella* spp. de carcaças de frangos de corte abatidos em abatedouros na região do recôncavo no Estado da Bahia, Brasil, no período de Abril a Maio de 2015.**

	Total de Amostras	Amostras Positivas	% Positivos
Intestino	64	27	42.20%
Fígado	78	43	55%
Pulmão	82	43	52.4%
Total	224	113	50,44%

### 5.1 Outros Achados

Das 224 amostras analisadas foi possível isolar e identificar colônias sugestivas para *Escherichia coli* em 45 (20%).



**Figura 11– Crescimento sugestivo de *E. coli* em meio EMB. Observação de colônias verdes brilhantes.**

## 6 Discussão

Do total das 976 amostras analisadas em estudo realizado em granjas comerciais nos Estados de São Paulo e de Goiás, 207 (21,2%) amostras foram positivas para *Salmonella* (CARDOSO, et al., 2013).

Estudo realizado no Estado de São Paulo para avaliar contaminação por *Salmonella* spp. em carcaças de frango, 30 (18,7%) das 160 amostras provenientes do abatedouro A e em 74 (56%) das 132 amostras colhidas no matadouro avícola B foram positivas (STOPPA et al., 2012).

Em 2679 carcaças de frango congeladas analisadas em 15 cidades brasileiras nos anos de 2004 a 2006, a prevalência de *Salmonella* spp. foi de 2,7% (MEDEIROS et al., 2011).

Borsoi et al. (2010) analisaram 180 carcaças de frango oriundas de varejos da região nordeste do Rio Grande do Sul no período de fevereiro a novembro de 2004 e obtiveram um percentual de isolamento de *salmonela* spp. de 12,2%. Duarte et al. (2009) analisaram 260 carcaças de frango e verificaram que 25 (9,6%) foram positivas para *Salmonella* spp.

Rezende et al., (2008), analisando corações e fígados liberados para consumo e corações e fígados condenados pela inspeção federal, na linha de evisceração, observaram 5,41% de amostras positivas em corações normais e 25,0% de amostras positivas para fígados condenados. Estes resultados revelam a presença do agente nesta etapa de abate. Nascimento et al., (2008) observaram que 14,32% de carcaças analisadas para *Salmonella* sp. positivas.

Esses dados denotam alta exposição ao agente para este tipo de alimento, nas diversas etapas do abate, com o agravante de facilidade de veiculação na evisceração. A evisceração é um ponto crítico de controle que deve ser monitorado pelo sistema APPCC, devido à possibilidade de contaminação de carcaças de frango por fezes (RODRIGUES et al. 2008).

Moreira et al. (2008), dentre as 363 carcaças de frango analisadas, isolou *Salmonella* spp. de 52 amostras (14,32%). Oliveira et al. (2006) encontrou 11,8% de *Salmonella* spp. nas carcaças de frangos de corte analisadas.

No Estado de Goiás, Rezende et al. (2005), pesquisaram 96 amostras de carcaças de frango e isolaram *Salmonella* spp. em 19 (19,8%) amostras. Carvalho; Cortez (2005) relataram a presença de *Salmonella* spp. Em 33 amostras de um total de 165 pesquisadas. Já Silva et al. (2004) observaram que, das 30 amostras de carcaças de frango pesquisadas, 13 apresentaram a presença de *Salmonella* spp.

Tessari et al. (2008) relataram a presença deste microrganismo em 13 das 68 amostras analisadas e Almeida Filho et al. (2003) constataram 18 amostras contaminadas em 40 analisadas. Pesquisas realizadas no Brasil por Almeida et al. (2000) relatam positividade de 86,7%. No Estado de São Paulo, Fuzihara et al. (2000) verificaram que 42% das carcaças analisadas eram positivas para *Salmonella* spp.).

## 7 Conclusão

Com base nos resultados obtidos no presente estudo, concluiu-se que:

- Os achados sugerem o crescimento e isolamento em meio seletivo de *Salmonella* spp. em 50,44% das amostras avaliadas que serão submetidas a técnicas de diagnóstico molecular para confirmação do agente.
- Há necessidade de maior monitoramento, adequando as indústrias aos padrões exigidos nos programas BPP (Boas Práticas de Produção) e APPCC (Análise dos Perigos e Pontos Críticos de Controle).

## 8 Referências

- ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H. Propriedades gerais das respostas imunológicas. In: *Imunologia Celular e Molecular*. Rio de Janeiro. ELSEVIER. 5ª ed. 580p. 2005.
- ABNT, Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR ISO 22000, de 2006: *Sistemas de gestão da segurança de alimentos – requisitos para qualquer organização na cadeia produtiva de alimentos*. Rio de Janeiro; 2006. p.35.
- ABPA, Associação Brasileira de Proteína Animal. Relatório Anual. Disponível em <<http://abpa-br.com.br/setores/avicultura>> Acesso em 10/08/2015.
- ALMEIDA FILHO, E.S. et al. Pesquisa de *Salmonella* spp em carcaças de frango (*Gallus gallus*), comercializadas em feira livre ou em supermercado no município de Cuiabá, MT, Brasil. *Higiene Alimentar*, v.17, n.110, p.74-79, 2003.
- ALMEIDA, I. C. et al. Isolamento e identificação de *Salmonella* em carcaças de frango congelados e frescos, através de método rápido. *Higiene Alimentar*, v.14, n. 70, p. 59-62. 2000.
- ANDREATTI FILHO, R. L. Paratifo aviário. IN: ANDREATTI FILHO, R. L. *Saúde aviária e doenças*. Ed. Rocca Ltda, São Paulo, 2007, cap. 9, p. 112- 117.
- ARMENDARIS, P. Abate de aves: dados de condenações. Serviço de Inspeção Federal. In: SIMPÓSIO DE SANIDADE AVÍCOLA DA UFSM, 5, Santa Maria, 2006. *Anais...* Santa Maria: Editora da UFSM, v. 5, p. 69-81, 2006.
- BACK, A. *Manual de doenças das aves*. 2. ed. Cascavel-PR: Editora Integração. 311p. 2010.
- BACK, A.; ISHIZUKA, M. M. Principais doenças de notificação obrigatória da Organização Mundial de Saúde Animal. São Paulo: Fundação Cargill. 239p. 2010.
- BARROW, P. A.; FREITAS NETO, O. C. Pullorum disease and fowl typhoid – new thoughts on old diseases: a review. *Avian Pathology*, London, v. 40, n. 1, p. 1-13, 2011.

BERCHIERI JÚNIOR, A.; FREITAS NETO, O. C. Salmoneloses. In: BERCHIERI JÚNIOR, A.; SILVA, E. N.; DI FÁBIO, J.; SESTI, L.; ZUANAZE, M. A. F. Doenças das aves, 2ª edição, Ed. FACTA, Campinas, 2009.

BERCHIERI JÚNIOR, A.; FREITAS NETO, O. C. O Tifo Aviário. Controle de salmoneloses mostra resultados no combate ao tifo aviário. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Unesp – Jaboticabal, São Paulo. 2013. Disponível em < [http://www.biovet.com.br/dicas/o-tifo-aviario/20130226152235\\_D\\_243](http://www.biovet.com.br/dicas/o-tifo-aviario/20130226152235_D_243)> Acesso em 22/01/2016.

BERCHIERI JÚNIOR, A.; FREITAS NETO, O.C. Controle de Salmoneloses mostra resultados no combate ao tifo aviário. Informativo Técnico Avícola Biovet, ano 11, n.2, 2012. p.6.

BERCHIERI JÚNIOR, A.; MACARI, M. Salmoneloses aviárias. In: Doenças das aves. Campinas: FACTA, 2000. cap.4.1, p.185-195.

BERNDT, A. et al. Circulating gamma delta T cells in response to *Salmonella* enterica serovar enteritidis exposure in chickens. Infection and Immunity. American Society for Microbiology, v. 74, n. 7, p. 3967-3978, 2006.

BESSA, M.C. Caracterização fenotípica e genotípica de amostras de *Salmonella* entérica sorovar Typhimurium isoladas de suínos no Rio Grande do Sul. 2006. 145f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

BORSOI, A. et al. Número mais provável de *Salmonella* isoladas de carcaças de frango resfriadas. Ciência Rural, v.40, n.11, p.2338-2342, nov. 2010.

BRASIL. Programa Nacional de Sanidade Avícola. Comitê Consultivo do PNSA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 1994.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 6 : Detecção e identificação de bactérias de importância médica /Agência Nacional de Vigilância Sanitária.– Brasília: Anvisa, 2013. p. 35-58.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Manual de Legislação. programas nacionais de saúde animal do Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Saúde Animal. Brasília. 2009. p. 201.

BRASIL. Ministério da Saúde. FUNASA. CENEPI. Mortalidade Brasil – 2004. Brasília: CENEPI/FUNASA. 2004.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RELATÓRIO DE PESQUISA EM VIGILÂNCIA SANITÁRIA DE ALIMENTOS. Monitoramento da prevalência e do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos em enterococos e salmonelas isolados de carcaças de frango congeladas comercializadas no Brasil. Brasília. 2012. p.14.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual técnico de diagnóstico laboratorial de *Salmonella* spp.: diagnóstico laboratorial do gênero *Salmonella*. Brasília. 2011. p.07.

BRASIL. Instrução Normativa nº 70 de 10 de outubro de 2003. Institui o Programa de Redução de Patógenos – Monitoramento Microbiológico e Controle Sanitário de *Salmonella* sp. em Carcaças de Frangos e Perus. Departamento de Defesa e Inspeção Vegetal. Secretaria de Defesa Agropecuária, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2003a.

BRASIL. Instrução Normativa nº 78 de 03 de novembro de 2003. Aprova as Normas Técnicas para Controle e Certificação de Núcleos e Estabelecimentos Avícolas como livres de *Salmonella* Gallinarum e de *Salmonella* Pullorum e Livres ou Controlados para *Salmonella* Enteritidis e para *Salmonella* Typhimurium. Secretaria de Defesa Agropecuária, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2003b.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto n. 30.691, de 29 de março de 1952. Aprova o novo Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de origem Animal. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 7 jul. 1952.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria n. 210, de 10 de novembro de 1998. Aprova o Regulamento Técnico da Inspeção Tecnológica e

Higiênico-Sanitária de Carne de Aves. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 26 nov. 1998.

BRASIL. Portaria 1.423 de 02 dezembro de 1993 - Aprova o Regulamento Técnico para Inspeção Sanitária de alimentos, as diretrizes para o estabelecimento de Boas Práticas de Produção e de prestação de serviços na área de alimentos e o Regulamento Técnico para o estabelecimento de Padrão de Identidade e Qualidade para serviços e produtos na área de alimentos. Ministério da Saúde. 1993.

CARDOSO, A.L.S.P.; TESSARI, E.N.C. *Salmonela* na Segurança dos Alimentos e na Avicultura. Centro Avançado de Pesquisa Tecnológica do Agronegócio Avícola. São Paulo, SP. Número 80.

CARVALHO, A.C.F.B.; CORTEZ, A.L.L. *Salmonela* sp. Em carcaças, carne mecanicamente separada, lingüiças e cortes comerciais de frango. *Ciência Rural*, v.35, n.6, p.1465-1468, 2005.

DARWIN, K.H.; MILLER, V.L. Molecular Basis of the Interaction of *Salmonela* with the Intestinal Mucosa. *Clinical Microbiology Reviews*, v.12, n.3, p.405-428, 1999.

DDTHA. Toxinfecção alimentar por *Salmonela* em um evento científico, São Paulo, 2004 CVE/CCD-SES. *Revista Saúde Pública* 39(3): p. 515-518. 2005.

DUARTE, D.A.M. et al. Occurrence of *Salmonela* spp. in broiler chicken carcasses and their susceptibility to antimicrobial agents. *Brazilian Journal of Microbiology*, v.40, n.3. 2009.

FERREIRA, E. O.; CAMPOS, L. C. *Salmonela*. In: TRABULSI, L. R, ALTERTHUM, F. *Microbiologia*. 5ª ed. São Paulo. Atheneu. cap. 43. p. 329-338. 2008.

FERNANDES, S. A. et al. *Salmonela* 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.

FORSYTHE, S.J. *Microbiologia da segurança alimentar*. Editora Artmed, Porto Alegre, p. 424. 2002.

FUZHARA, T. O. et al. Prevalence and dissemination of *Salmonela* serotypes along the slaughtering process in Brazilian small poultry slaughterhouses. *Journal of Food Protection*, v.63, n.12; p.1749-1753, 2000.

GANDRA, E. A. et al. Técnicas moleculares aplicadas à microbiologia de alimentos. Acta Sci. Technol. Maringá, v. 30, n. 1, p.109-118, 2008.

GIBSON, D.L. et al. AgfC and AgfE facilitate extracellular thin aggregative fimbriae synthesis in Salmonella Enteritidis. Microbiology. v.153, p.1131-1140, 2007.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. Higiene e vigilância sanitária de alimentos: qualidade das matérias-primas, doenças transmitidas por alimentos, treinamento de recursos humanos. Barueri, SP: Manole. 229-230; 317p. 2008.

GOMES, M. J. P. Enterobacteriaceae (Salmonella spp). UFRGS - Laboratorio de Analises clinicas veterinarias. Microbiologia Clinica. 2008. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/labacvet/pdf/salmonella200901.pdf>> Acesso em 10 Outubro. 2015.

GOMES, M. J. P. Grupo das enterobacteriáceas (Salmonella spp.). Microbiologia Clínica Veterinária VET 3225. UFRGS, 2012.

GOMES, M. J. P. Gênero Salmonella: Gênero Salmonella spp. Rio Grande do Sul: FAVET. UFRGS, 2015. 36 p.

GOMIDE, L. A. M. Tecnologia de abate e tipificação de carcaças. Viçosa. Editora Viçosa. 370 p. 2006.

GOOSNEY D.L. et al. Enteropathogenic E. coli, Salmonella and Shigella: Master of host cell cytoskeletal exploitation. Emerging Infectious Diseases. v.5, n.2, p.216-223,1999.

GRASSL.G, A; FINLAY, B. B. Pathogenesis of enteric salmonella infections. Curr. Opi Gastroenteral. v.24, n.1, p.22-26, jan. 2008.

GRIMONT, P.; WEILL,F.X. Antigenic formulae of the Salmonella serovars. 9th ed. Paris: WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Salmonella. Institut Pasteur. 2007.

GUIBOURDENCHE, M. et al.. Supplement 2003 – 2007 (No.47) to the White-Kauffmann –Le Minor scheme. Research in Mivrobiology v.161, p.26-29, 2010. Disponível em: <[ttp://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0923250809001818](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0923250809001818)> Acesso em: 21 Nov. 2015.

HERMANN, S. Principais pontos críticos de controle da *Salmonella* na cadeia de produção avícola. XIII SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA E IV BRASIL SUL POULTRY FAIR. p.39-51. Embrapa Suínos e Aves, Chapecó, SC, Brasil. 2012.

JACOBSEN, G.; FLÔRES, M. L. Condenações por síndrome ascítica em frangos abatidos sob inspeção federal entre 2002 e 2006 no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Rural*, v. 38, n.7, p.1966-1971, 2008.

JIN, L. Z.; et al. Growth performance, intestinal microbial populations, and serum cholesterol of broilers fed diets containing *Lactobacillus* cultures. *Poultry Science*. v.77, p.1259-1265, 1998.

JR, K. H. M., et al. Food safety issues for meat / poultry products and international trade. *Diet, Safety and Health USDA, AIB 789-4*: 1-2. 2004.

LÁZARO, et al. Gênero *Salmonella*: Características Epidemiológicas e Laboratoriais. Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ. 2008. p.16-41.

LOUREIRO, E.C.B. et al. *Salmonella* serovars of human origin identified in Pará State, Brazil from 1991 to 2008. *Revista Pan\_Amazônica de Saúde*, v1. N.1, p.93-100, 2010.

LOURENÇO, M. C. S. et al. *Salmonella enterica* subsp *houtenae* serogroup O:16 in a HIV positive patient: case report. *Rev. Inst. Med. Trop.*, São Paulo, v.46, n.3, p.169-170, may/jun. 2004.

LORENZONI, G. Salmonellosis. IN: LORENZONI, G. *Poultry diseases influenced by gastrointestinal health*. Thrumpton, Ed. Nottingham, 2010, seção IV, p.73-78.

MACARI, M; MAIORKA, A. Função gastrointestinal e seu impacto no rendimento avícola. In: Conferência APINCO de ciências e tecnologias avícola. 2000. Campinas. Anais... p.161-174.

MAJOWICZ, S. E. et al. The global burden of nontyphoidal *Salmonella* gastroenteritis. *Clin Infect Dis.*, v. 50, n .6, p. 882-889, 2010.

MANSFIELD, L. P.; FORSYTHE, S. J. Detection of *Salmonella* serovars from animal feed and raw chicken using a combined immunomagnetic separation and ELISA method International. *Journal of Food Microbiology*, v. 18. p. 361-366, 2001.

- MANI-LÓPEZ, E. et al. A Organic acids as antimicrobials to control Salmonella in meat and poultry products. Food research international, Ottawa, v. 45, n. 2, p. 713-721, 2012.
- MEDEIROS, M.A.N. et al. Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* in chicken carcasses at retail in 15 Brazilian cities. Revista Panamericana de Salud Pública, n.30, v.6, p.555-560, 2011.
- MUNIZ, E.C. Atualidades no estudo das salmoneloses aviárias. XIII Simpósio Brasil Sul de Avicultura, 2012. Chapecó (SC). p.13-26. 2012.
- MONACK D.M. et al. Salmonella exploits caspase-1 to colonize Peyer's patches in a murine typhoid model. The Journal Experimental Medicine, v.192, n.2, p.249-258, 2000.
- MONTASSIER, H.J. Fisiologia do sistema imune. In: Doença das Aves. Campinas, São Paulo. FACTA. 2a ed. p.391-434. 2009.
- MOREIRA, N. M. Estudo sobre Salmonella sp. e seus mecanismos de resistência a antibióticos. 2012. 39f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2012.
- MOREIRA, G. N. et al. Ocorrência de Salmonella sp. em carcaças de frangos abatidos e comercializados em municípios do estado de Goiás. Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO/Brasil. 2008.
- MORGULES, M.S.F.A. Imunomoduladores. In: Farmacologia Aplicada a Avicultura. São Paulo. Roca. p.249-264, 2005.
- NASCIMENTO, W. P. et al. O controle das *Salmonelas* na cadeia produtiva avícola. In: Simpósio sobre Ambiente, Sanidade e Qualidade da Carcaça de Frangos de Corte, Anais... Concórdia, EMBRAPA CNPSA. p. 32-39. 1997.
- NASCIMENTO, G. M. et al. Ocorrência de Salmonella sp. em carcaças de frangos abatidos e comercializados em municípios do estado de Goiás. Revista do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, v. 67, n.2, p.126-130, 2008.
- OCHOA, I.M.F.; RODRIGUEZ, A.V. Mecanismos moleculares de patogenicidad de Salmonella sp. Review Article. v.47, n.1-2, p.25-42, 2005.

- OHL, M.E.; MILLER, S.I. Salmonella: a model for bacterial pathogenesis. Annual Review Medical, v.52, p.259-274, 2001.
- ORGANIZAÇÃO INTERNACIONAL DE EPIZOOTIAS (OIE). Fowl typhoid and Pullorum disease, capítulo 2.3.11. In: OIE (Ed.). Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 7th Ed. Paris: OIE, 2012. p. 538-548.
- OLIVEIRA, S. J. Salmonella. In: Guia bacteriológico prático: microbiologia veterinária. Editora Ulbra. 3ª Ed. 2012. p.121-125.
- OLIVEIRA W. F. et al. Initial identification and sensitivity to antimicrobial agents of *Salmonella* sp, isolated from poultry products in the State of Ceará, Brazil. Braz. Journal Poultry Science, v. 8, p.193-199, 2006.
- OLIVEIRA, S.J. Guia bacteriológico prático: microbiologia veterinária. Canoas: ULBRA, 2000. 237p.
- OLIVEIRA, C. J. B. et al. Prevalence of pigs infected by *Salmonella* Typhimurium at slaughter after an enterocolitis outbreak. International Journal of Food Microbiology. v. 105, p. 267– 271, 2005.
- OLIVO, R. O mundo do frango: cadeia produtiva da carne de frango. Criciúma: Varela, 2006. 688p.
- PORTER-JR, R. E. Bacterial enteritides of poultry. Poultry Science. West Lafayette, v.77, n. 8, p. 1159–1165, 1998.
- QUINN P.J. et al. Bacterial pathogens: microscopy, culture and identification. In Clinical Veterinary Microbiology. London, England. Wolfe publishing. p.20–60. 1994.
- RABSCH, W. et al. *Salmonella enterica* serotype typhimurium and its host-adapted variants. Infection and Immunity. v.70, n.5, p.2249-255, 2002.
- REVISTA CIENTÍFICA ELETRÔNICA DE MEDICINA VETERINÁRIA – ISSN: 1679-7353 Ano XI. Número 20. Editora FAEF. 2013.
- RIBEIRO, S. A. M. et al. Molecular differentiation between *Salmonella enterica* subsp *enterica* serovar Pullorum and *Salmonella enterica* subsp *enterica* serovar Gallinarum. Brazilian Journal of Microbiology, São Paulo, v.40, p.184-188, 2009.

REVOLLEDO, L. Alternativas para o controle de *Salmonella*. IX Simpósio Brasil Sul de Avicultura. p.95-110. 2008.

REZENDE, C. S. M. et al. *Salmonella* sp. em corações e fígados normais e condenados de frangos de corte abatidos no estado de Goiás e identificação da suscetibilidade a antimicrobianos Revista do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, v. 67, n.2, p.142-147, 2008.

REZENDE, C.S.M. et al. Sorovares de *Salmonella* isolados de carcaças de frangos de corte abatidos no Estado de Goiás, Brasil, e perfil de resistência a antimicrobianos. Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias, v.100, n.555-556, p.199-203, 2005.

RODRIGUES, A.C.A et al. Análise e monitoramento de pontos críticos no abate de frangos utilizando indicadores microbiológicos. Ciência Rural, Santa Maria, v.38, n.7, p. 1948-1953, 2008.

RODRIGUES, D. P. Perspectivas atuais e falhas no diagnóstico antigênico de *Salmonella* spp: importância no reconhecimento dos sorovares circulantes, emergentes e exóticos. SEMINÁRIO INTERNACIONAL SOBRE SALMONELOSE AVIÁRIA. Rio de Janeiro, Brasil. 2011.

SCHMDT, G. S.; FIQUEIREDO, E. A. P. Abate, processamento e embalagens de aves alternativas. Folhetos. Embrapa Suínos e Aves, 2002.

SILVA, E.N.; DUARTE, A. *Salmonella* Enteritidis em aves: Retrospectiva no Brasil. Revista Brasileira de Ciência Avícola. São Paulo, v.4, n.2, maio–agosto, p. 85-100, 2002.

SILVA, F.V.M.; GIBBS, P.A. Thermal pasteurization requirements for the inactivation of *Salmonella* in foods. Food Research International, v.45, p.695-699, 2012.

SILVA, M.C.D. et al. *Salmonella* spp. em ovos e carcaças de frangos “in natura” comercializados em Maceió, AL. Higiene Alimentar, v.18, n.121, p.80-84, 2004.

TESSARI, E.N.C. et al. Prevalência de *Salmonella* Enteritidis em carcaças de frango industrialmente processadas. Higiene Alimentar, v.17, n.107, p.52-55, 2003.

SILVA, N. et al. *Salmonella* in: Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos. 3. ed. Varela. cap.19, p.253-285. São Paulo. 2007.

SILVA, R. A. S. A implantação de um plano APPCC em um abatedouro de aves - Produto: Frango inteiro desossado congelado. 2004. 48 p. Trabalho de conclusão de curso (Pós Graduação Lato Sensu em Qualidade em Alimentos)- Centro de Excelência em Turismo-Universidade de Brasília/UnB, Brasília, 2004.

TERZOLO, H.R. Estudio bacteriológico de las salmonelosis de las aves (*S. pullorum*, *S. gallinarum*, *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium*) em La América Latina. In: Simpósio Internacional sobre Salmonelose Aviária. Rio de Janeiro. 2011.

TESSARI E.N.C. et al. Ocorrência de *Salmonela* spp. em carcaças de frangos industrialmente processadas, procedentes de explorações industriais do Estado de São Paulo. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.38, n.9, dez, 2008.

THOMAS, M. E. et al. Quantification of horizontal transmission of *Salmonela* enterica serovar Enteritidis bacteria in pair-housed groups of laying hens. *Appl Environ Microbiol.* v. 75, n. 19, p. 6361-6, 2009.

TIROLI, Z.C.C.; COSTA, C.A. Ocorrência de *Salmonela* sp em carcaças de frangos recém abatidos em feiras e mercados da cidade de Manaus-AM. *Acta Amazonas*, vol. 36, n. 2, Manaus, 2006.

VASCONCELLOS, G. S. F. M. et al. Gerenciamento em saúde animal e saúde pública - Surto de Salmonelose em produtos de origem aviária. Universidade de São Paulo. FMVZ. 2014. p.09.

VIANEZ JUNIOR, J. L. S. G. Bioinformática aplicada no desenho de indicadores para genes funcionais: Degradação de herbicida 2,4-D - estudo de caso. 2007. 148 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Vegetal) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.

VIEIRA, D. A. P. et al. Provas bioquímicas e cultura de microrganismos. In *Microbiologia Geral*. Inhumas. IFG. Universidade Federal de Santa Maria. 2012. p.87-90.