

MONITORAMENTO BACTERIOLÓGICO PARA *Salmonella* spp. EM POEDEIRA COMERCIAL NA RECRIA E PRODUÇÃO DE EMPRESAS AVÍCOLAS DA REGIÃO METROPOLITANA DE FORTALEZA, CE, BRASIL

ROSA PATRÍCIA RAMOS SALLES,¹ RÉGIS SIQUEIRA DE CASTRO TEIXEIRA,¹ ADONAI ARAGÃO DE SIQUEIRA,¹
EMANUELLA EVANGELISTA DA SILVA,¹
SAMUEL BEZERRA DE CASTRO E WILLIAM MACIEL CARDOSO²

1. Universidade Estadual do Ceará.

2. Universidade Estadual do Ceará – Contato principal para correspondência.

RESUMO

O presente trabalho objetivou investigar a presença de *Salmonella* em lotes de poedeiras comerciais de oito empresas da região metropolitana de Fortaleza, CE, Brasil. Realizaram-se suabes em cinco caixas de transporte por lote das oito empresas analisadas, totalizando quarenta amostras de mecônio, sendo todas negativas para *Salmonella*. Os mesmos lotes (oito) foram monitorados na décima, vigésima, trigésima e quadragésima semanas de idade com exame bacteriológico de *pool* de cem fezes frescas. Foram isoladas *Salmonella enterica* subespécie *enterica* cepa rugosa e *Salmonella* Newport das amostras de fezes

nas empresas 2 e 6 na vigésima e quadragésima semanas de idade respectivamente. A presença de *Salmonella* em 6,25 % das amostras de fezes sugere a contaminação das aves após sua chegada nas granjas. Das empresas analisadas, 25 % apresentaram positividade para *Salmonella* no *pool* de fezes, mostrando a necessidade de programa preventivo mais eficaz nas empresas produtoras de ovos. Os estudos mostram que não houve transmissão vertical, porém existem falhas no programa de biossegurança, já que as aves se contaminaram após sua chegada nas empresas.

PALAVRAS-CHAVES: Bacteriologia, fezes, galinhas, ovos, *Salmonella*.

ABSTRACT

Salmonella sp. BACTERIOLOGY MONITORING IN LAYING HENS AT DIFFERENT GROWING AND LAYING PERIODS FROM POULTRY FARMS IN METROPOLITAN REGION OF FORTALEZA, CE, BRAZIL

This work aimed to verify *Salmonella* occurrence in laying hen flocks from eight poultry farms in Metropolitan Region of Fortaleza city. Swab collections were performed in transport boxes of day-old-chicks, totaling 40 feces samples (5 samples/flock), which presented no *Salmonella* contamination. Bacterial analyses from a pool of feces were performed in the same flocks at 10, 20, 30 and 40 weeks of age. *Salmonella enterica* rough strain and *Salmonella* Newport were found in two flocks at 20 and 40 weeks of age, respectively. These results suggest that the

birds were infected with *Salmonella* after their arrival in the poultry farms. It was verified that 25% of the poultry farms presented positive feces samples for *Salmonella* contamination, indicating the need for a more efficacious preventive program in the poultry farms for egg production. This work suggests that day old birds were of *Salmonella* contamination which indicates no vertical *Salmonella* transmission, however the rearing phase present failures regarding bacterial control.

KEY WORDS: Bacteriology, chickens, eggs, feces, *Salmonella*.

INTRODUÇÃO

É reconhecido que as infecções alimentares são um problema de saúde pública. A salmonelose, uma das zoonoses de maior prevalência nos países desenvolvidos e em desenvolvimento, é causada por microrganismos do gênero *Salmonella*. Como se trata de enfermidade que é problemática para a saúde pública, seu gênero bacteriano é um dos mais estudados microbiologicamente (NASCIMENTO et al., 2000).

Vale lembrar que alimentos de origem animal podem veicular microrganismos patogênicos, como o *Campylobacter jejuni* e a *Salmonella* spp., que são responsáveis por parcela de ocorrências de toxinfecções alimentares. Embora no Brasil não haja dados estatísticos definidos, pode-se afirmar que a incidência de toxinfecções é elevada, uma vez que esses microrganismos são freqüentemente isolados de produtos avícolas (CARVALHO & CORTEZ, 2003).

As salmonelas são, portanto, um grave problema para a avicultura industrial (TESSARI et al., 2003), visto que o risco de insegurança alimentar tem gerado uma redução no consumo de produtos avícolas e outros produtos de origem animal (RICHARDSON, 2005).

A análise epidemiológica das doenças infecciosas está sedimentada em alguns parâmetros constituintes da história natural das ocorrências. Por isso, um dos aspectos que circundam esse problema reside no isolamento e na identificação do agente etiológico (HOFER et al., 1997).

No caso das salmonelas aviárias, interessa, em primeiro plano, o conhecimento da incidência ou a prevalência dos sorovares de *Salmonella*. Com isso, posteriormente, podem ser estabelecidos confrontos de suas freqüências em diversas regiões, bem como o rastreamento dos sorotipos predominantes, visando à implantação de medidas preventivas ou de controle (SNOEYENBOS & WILLIAMS, 1991).

No Brasil, são escassos os levantamentos sobre a presença de *Salmonella* em ovos comerciais (LANGONI et al., 1995). A *Salmonella* Enteritidis foi detectada pela primeira vez em

matrizes pesadas jovens, no ano de 1989 (FERREIRA et al., 1990). A *Salmonella* é excretada através das fezes, sendo a cloaca a via de passagem durante a oviposição. Por essa razão, o estudo da microbiota fecal é importante tanto no que se refere à disseminação desse patógeno às aves industriais quanto aos problemas de saúde pública.

As aves excretam 10^8 células de *Salmonella* por grama de fezes (BRYAN & DOYLE, 1995), contaminando, assim, rapidamente as aves dentro do lote (BERNDTSON et al., 1996). Do ponto de vista estritamente bacteriológico, o conhecimento da prevalência de sorotipos de *Salmonella* numa determinada fonte de infecção ou região geográfica propicia uma economia de tempo e de material empregados no diagnóstico das estruturas antigênicas por parte de laboratórios locais (HOFER et al., 1997).

No Estado do Ceará, não existem trabalhos sobre a incidência de *Salmonella* em lotes de poedeiras comerciais, a despeito de todo programa de controle de doenças infecciosas ser baseado no conhecimento das vias de introdução e disseminação do patógeno.

Com este trabalho, objetivou-se, portanto, verificar a ocorrência de *Salmonella* em poedeiras comerciais, desde a chegada das pintainhas nas granjas até as quarenta semanas de idade de empresas avícolas da região metropolitana de Fortaleza, CE, o que foi feito mediante amostras de mecônio e fezes.

MATERIAL E MÉTODOS

Monitoraram-se oito empresas de postura comercial, localizadas na região metropolitana de Fortaleza, CE, no período de agosto de 2004 a janeiro de 2006, por meio de pesquisa realizada em amostras de mecônio e fezes em diferentes idades das aves, com acompanhamento de um lote de cada empresa, escolhido aleatoriamente. Nas pintainhas recém-chegadas à granja, coletou-se o mecônio por meio de suabes de gaze embebidos em água peptonada, os quais foram passados no fundo das caixas de transporte, sendo cinco caixas por lote, totalizando quarenta

amostras. Após essa primeira análise, submetem-se os mesmos lotes (oito) à coleta constituída de *pool* de cem fezes frescas coletadas do galpão, abaixo das gaiolas. Colheram-se as fezes, de forma asséptica, por espátula esterilizada, sendo depositadas em frascos estéreis, os quais foram transportados sob refrigeração ao laboratório de análises. O monitoramento microbiológico das fezes de cada lote foi realizado quando as aves tinham dez, vinte, trinta e quarenta semanas de idade. Somaram quatro amostras para cada lote, totalizando 32 amostras de *pool* de cem fezes.

O procedimento bacteriológico adotado para isolamento e identificação de *Salmonella* seguiu as recomendações da Organização Mundial de Saúde (OMS) com algumas modificações, sendo composto pelas seguintes etapas: pré-enriquecimento, no qual o suabe de mecônio e as fezes foram adicionados em Erlenmeyer contendo 100 mL e 225 mL de água peptonada, respectivamente, e incubados a 37° C por 24 horas. Alíquotas de 1 mL e 0,1 mL da cultura pré-enriquecida foram transferidas para tubos contendo 10 mL de Caldo Selenito e Rappaport Vassiliadis, respectivamente, incubando-se ambos os meios a 37° C por 24 horas. A partir do cultivo nos caldos de enriquecimento seletivo, as amostras foram semeadas com alça de platina em placas contendo ágar MacConkey e Verde Brilhante, sendo incubadas a 37° C por 24 horas. Três a cinco colônias com crescimento sugestivo do gênero *Salmonella* obtidas das placas foram semeadas com auxílio de agulha de níquel-cromo para tubos contendo ágar inclinado TSI (Triple Sugar Iron), LIA (Lisina Iron Agar) e tubos com meio SIM (Sulphide Indol Motility), os quais foram incubados a 37° C por 24 horas para identificação presuntiva. Submeteram-se as colônias com comportamento bioquímico característico do gênero *Salmonella* nesses meios ao teste de aglutinação em placa com soros antíflagelar H e anti-somático O de *Salmonella*. As amostras com reações positivas foram conservadas em ágar nutriente e remetidas ao Instituto Adolfo Lutz, em São Paulo, para sorotipagem.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi detectada *Salmonella* nas quarenta amostras de mecônio analisadas provenientes das oito empresas, como também relataram GAMBIRAGI et al. (2003), em suabe de cloaca de trezentos pintos de corte de um dia de idade, e OLIVEIRA et al. (2004), avaliando a presença de enterobactérias em dez lotes de frango de corte de explorações industriais do Estado do Ceará.

ZANCAN et al. (2000) isolaram *Salmonella* (44,45 %) em caixas de transporte de cinco granjas de poedeiras em seis analisadas. Também GAMA et al. (2003), em pesquisa de *Salmonella* em caixas de transporte de doze lotes de poedeiras, isolaram em quatro deles (33,3 %) *Salmonella* Enteritidis no Estado de São Paulo. ROCHA et al. (2003), em exame de caixas de transporte de dezoito lotes de poedeiras em três empresas diferentes, observaram que, de 180 amostras, vinte (11%) foram positivas para *Salmonella*.

Os resultados obtidos nesta pesquisa sugerem que não ocorreu transmissão vertical, já que todas as amostras de mecônio foram negativas para *Salmonella*. Segundo GAST (1997), o primeiro passo para prevenir a introdução de *Salmonella* em granjas é evitar a transmissão vertical, de modo que qualquer falha no programa de biosseguridade levará a uma contaminação da prole. Lotes livres de contaminação dependem, portanto, de um controle rígido e eficaz dentro dos programas sanitários de matrizes que reflete de forma positiva na saúde dos pintinhos (TESSARI et al., 2003; ROCHA et al., 2003). Uma vez que a transmissão vertical, como via introdutória de *Salmonella* em criações avícolas, pode ser confirmada pelas análises de forros de caixa de transporte (ROCHA, 2003), os resultados desta pesquisa indicam haver um controle sanitário adequado nas granjas de reprodutoras e nos incubatórios fornecedores das aves utilizadas.

Os resultados microbiológicos, das amostras de *pool* de fezes dos lotes das oito empresas, estão representados na Tabela 1.

TABELA 1. Relação entre número de lotes examinados (amostras de fezes) e lotes positivos para *Salmonella* durante o período de agosto de 2004 a janeiro de 2006.

Empresa	<i>Salmonella</i>	Amostras positivas (n)	Sorotipo
1	Ausente	0/4	-
2	Presente*	1/4	<i>Salmonella enterica</i>
3	Ausente	0/4	-
4	Ausente	0/4	-
5	Ausente	0/4	-
6	Presente**	1/4	<i>Salmonella</i> Newport
7	Ausente	0/4	-
8	Ausente	0/4	-
Total	-	2/32	-

* 20 semanas de idade

** 40 semanas de idade

De acordo com os dados obtidos, verifica-se que, das 32 amostras de *pool* de fezes avaliadas, duas apresentaram positividade para *Salmonella*, resultando numa incidência de 6,25% das amostras processadas. Após a tipificação, foi observada a presença da *Salmonella enterica*, subespécie *enterica*, cepa rugosa e *Salmonella* Newport, para os lotes positivos das empresas 2 e 6, respectivamente. Esses resultados mostram a necessidade de uma maior atenção em dois aspectos sanitários importantíssimos na avicultura industrial: medidas de biossegurança e resistência aos agentes antimicrobianos. Em relação ao primeiro aspecto, a *Salmonella* pode ter ocorrido em decorrência de falhas no manejo sanitário, uma vez que diversos estudos apontam a contaminação da ração como um alto impacto na incidência de colonização do ceco por *Salmonella* (RICHARDSON, 2005). GAMA (2001), por exemplo, ao isolar em fezes de poedeiras *Salmonella enterica* cepa rugosa, atribuiu essa infecção ao consumo de ração contaminada.

Vários autores (DAVIES & BRESLIN, 2003; GRADEL et al., 2004) consideram a persistência de contaminação dos lotes de poedeiras comerciais nas granjas um problema predominante. Nos Estados Unidos, de janeiro a abril de 2002, foi isolada *Salmonella* Newport em 47 pessoas com sintomas de diarreia, dor abdominal, febre e vômito (ZANSKY, 2002). Outra grande preocupação está relacionada à resistência bacteriana, pois casos de multi-resistências relacionados à *Salmonella* Newport têm sido relatados em ho-

mens e animais (DUNNE, 2000) e são decorrentes do uso indiscriminado de agentes antimicrobianos (ZHAO et al., 2003).

SOUZA et al. (2002) registraram, após estudo epidemiológico em fezes de poedeiras, a presença de *Salmonella* antes e após a muda forçada, observando que as empresas avícolas devem considerar a possibilidade de contaminação por meio das fezes. GAMA (2001), em estudo de galinhas destinadas à postura comercial, desde a chegada do lote de pintainhas até a fase de produção, verificou que a transmissão vertical continua sendo uma importante via de introdução de salmonelas paratíficas nas granjas e que lotes de aves naturalmente infectadas produziram ovos contaminados. Alguns autores, porém, afirmam que não existe nenhuma correlação entre a eliminação de *Salmonella* nas fezes e a frequência de contaminação do ovo (GAST et al., 2005). Para GAST & BEARD (1992), fezes contaminadas com *Salmonella* Enteritidis podem sugerir a contaminação do ovo, diante do fato de terem observado uma relação positiva entre fezes de galinhas artificialmente contaminadas e a casca dos ovos. De acordo com MORRIS (1990), a contaminação ocorre pelo contato das cascas dos ovos.

CONCLUSÃO

Os estudos realizados nesta pesquisa indicam que não houve transmissão vertical e que a contaminação por *Salmonella* ocorreu após a

chegada das pintainhas nas granjas. Isso mostra que houve falhas no programa de biossegurança e que há necessidade de desenvolvimento de programa sanitário preventivo eficaz.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio ao desenvolvimento deste trabalho, e ao Laboratório de Estudos Ornitológicos (LABEO), da FAVET-UECE.

REFERÊNCIAS

- BERNDTSON, E.; EMANUELSON, U.; ENGVALL, A.; DANIELSSON-THAN, M.L. A 1-year epidemiological study of *Campylobacters* in 18 Swedish chicken farms. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 26, n.3, p. 167-185, 1996.
- BRYAN, F.L.; DOYLE, M.P. Healthy risks and consequences of *Salmonella* and *Campylobacter jejuni* in raw poultry. **Journal of Food Protection**, v. 58, n. 3, p. 326-344, 1995.
- CARVALHO, A.C.F.B.; CORTEZ, A.L.L. Contaminação de produtos avícolas industrializados e seus derivados por *Campylobacter jejuni* e *Salmonella* sp. **ARS Veterinária**, v.19, n. 1, p. 57-62, 2003.
- DAVIES, R ; BRESLIN, M. Observations on *Salmonella* contamination of commercial laying farms before and after cleaning and disinfection. **Veterinary Record**, v. 152, p. 283-287, 2003.
- DUNNE, E. F.; FEY, P. D.; KLUDT, P.; REPORTER, R.; MOSTASHARI, F.; SHILLAM, P.; WICKLUND, J.; MILLER, C.; HOLLAND, B.; STAMEY, K.; BARRETT, T. J.; RASHEED, J. K.; TENOVER, F. C.; RIBOT, E. M. ; ANGULO, F. J. Emergence of domestically acquired ceftriaxone-resistant *Salmonella* infections associated with ampC beta-lactamase. **Journal of the American Medical Association**, v. 284, n. 24, p.3151-3156, 2000.
- FERREIRA, A.J.P.; ITO, N.M.K., BENEZ, S.M. Infecção natural e experimental por *Salmonella enteritidis* em pintos. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, Campinas, FACTA, **Anais...** Campinas: FACTA, 1990. p.171.
- GAMA, N.M.S.Q. *Salmonella* spp. em aves de postura comercial. Jaboticabal, São Paulo, 2001. 58 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista.
- GAMA, N.M.S.Q; BERCHIERI JR., A; FERNANDES, S.A. Occurrence of *Salmonella* sp in laying hens. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 5, n. 12, p. 15-21, 2003.
- GAMBIRAGI, A.P.O.M.; SALLES, R.P.R; AGUIAR FILHO, J.L.; CARDOSO, W.M.; OLIVEIRA, W.F.; ROMÃO, J.M.; TEIXEIRA, R.S.C. *Salmonella* sp. em frangos de corte de um dia de idade na região metropolitana de Fortaleza, CE. **Acta Scientia e Veterinariae**, v. 31, n. 2, 2003.
- GAST, R. K.; GUARD-BOULDIN, J.; HOLT., P.S. The Relationship Between the Duration of Fecal Shedding and the Production of Contaminated Eggs by Laying Hens Infected with Strains of *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Heidelberg. **Avian Diseases**, v. 49, n.3, p. 382-386, 2005.
- GAST, R.K.; BEARD, C.W. Detection and enumeration of *Salmonella* enteritidis in fresh and stored eggs laid by experimentally infected hens. **Journal of Food Protection**, v. 55, p.152-156, 1992.
- GAST, R.K. *Salmonella* infectious. In: CALNEK, B.W.; BARNES, H.J.; BEARD, C.W.; McDOULGALD, L.R.; SAIF, Y.M. (Eds.). **Disease of poultry**. 10. ed. Ames: Iowa State University. Press, 1997. p. 89-129.
- GRADEL, K.O.; SAYERS, A.R.; DAVIES, R.H. Surface disinfection tests with *Salmonella* and a putative indicator bacterium, mimicking worst-case scenarios in poultry houses. **Poultry Science**, v. 83, p. 1636-1643, 2004.
- HOFER, E.; SILVA FILHO, S.J.; REIS, E.M.F. Prevalência de sorovares de *Salmonella* isolados de aves no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 17, p. 55-62, 1997.
- LANGONI, H.; PRADO, R.A.T.; PINTO, .P.A.N.; BALDINI, S.; PIMENTEL, V.L. Isolamento de salmonelas em ovos de galinha oferecidos no comércio de Botucatu, S.P. **Higiene Alimentar**, v. 9, p. 45-47, 1995.
- MORRIS, G.K. *Salmonella* enteritidis and eggs: assessment of risk. **Dairy, Food and Environmental Sanitation**, v. 10, n. 5, p. 279-281, 1990.
- NASCIMENTO, M.S.; BERCHIERI JUNIOR, A.; BARBOSA, M.D.; ZANCAN, F.T.; ALMEIDA, W.A.F. Comparação de meios de enriquecimento e de plaqueamento na pesquisa de *Salmonella* em carcaças de frango e fezes de aves. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 2, n. 1, p. 85-91, 2000.

OLIVEIRA, W. F.; MACIEL, W. C.; MARQUES, L. C. L.; SALLES, R. P. R.; AGUIAR FILHO, J. L. C.; TEIXEIRA, R. S. C.; ROMÃO, J. M.; LIMA, A. C. P. Utilização de diferentes meios de cultura para o isolamento de enterobactérias em amostras fecais de frango de corte procedentes de exploração industriais do Estado do Ceará, Brasil. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 99, n. 522, p. 211-214, 2004.

RICHARDSON, K. Impacto da qualidade microbiológica da ração na contaminação de ovos e carcaças. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE AVES E SUÍNOS, AVESUI, 4., Florianópolis, SC, 2005. **Anais...** Disponível em <<http://www.cnpsa.embrapa.br/>>. Acesso em: 12 jul. 2007.

ROCHA, P. T.; MESQUITA, A. J.; ANDRADE, M. A.; LOULY, P. R.; NASCIMENTO, M. N. *Salmonella* spp. in paper pads of chick boxes and organs of one-day-old chicks. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 55, n. 6, p. 672-676, 2003.

SNOEYENBOS, G. H.; WILLIAMS, J. E. Salmonellosis. In: CALNEK, B. W.; BARNES, H. J.; BEARD, C. W.; REID, W. M.; YODER, H. W. (Ed). **Diseases of Poultry**. 9. ed. Ames: Iowa State University Press, 1991. p-73-86.

SOUZA, E.R.N.; CARVALHO, E.P.; DIONÍZIO, F.L. Estudo da presença de *Salmonella* sp. em poedeiras subme-

tidas à muda forçada. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 26, n. 1, p. 140-147, 2002.

TESSARI, E. N. C.; CARDOSO, A. L. P. S.; CASTRO, A. G. M.; ZANATTA, G. F., KANASHIRO, A. M. I. Incidência de *Salmonella* em pintos de corte recém-nascidos. **Arquivo Instituto Biológico**, v. 70, n. 3, p. 279-281, 2003.

ZANCAN, F. T.; BERCHIERI JUNIOR, A.; FERNANDES, S.A; GAMA, N.M.S.Q. *Salmonella* spp investigation in transport boxes of day-old birds. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 31, n. 3, p. 229-232, 2000.

ZANSKY, S.; WALLACE, B.; SCHOONMAKER-BOPP, D.; SMITH, P.; RAMSCY, P.; PAINTER, J.; GUPTA, A.; KALLURI, P.; NOVIELLO, S. Outbreak of multidrug resistant *Salmonella* Newport. United States, Jan.-April 2002. **MMWR** 5, p. 545-548, 2002.

ZHAO, S.; QAIYUMI, S.; FRIEDMAN, S.; SINGH, R.; FOLEY, S. L.; WHITE, D. G.; MCDERMOTT, V; DONKAR, T.; BOLIN, C.; MUNRO, S.; BARON, E. J.; WALKER, R. D. Characterization of *Salmonella enterica* serotype newport isolated from humans and food animals. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, n.12, p. 5366-5371, 2003.

Protocolado em: 12 mar. 2007. Aprovado em: 28 ago. 2007.