

1. INTRODUÇÃO

A avicultura é o setor do agronegócio brasileiro que mais investiu em tecnologia nos últimos 20 anos, proporcionando uma significativa evolução na produção. O dinamismo desta atividade, está atrelado aos constantes ganhos em produtividade, devido à melhora dos índices de conversão alimentar, melhoramento genético, maior automação dos aviários e melhor manejo (APA, 2005).

Segundo a Associação Paulista de Avicultura (APA, 2005), a produção de frangos de corte no Brasil aumentou 6%, se comparado a de 2004. Em 2005, o Brasil alcançou o terceiro lugar na produção mundial para exportação da carne de frango, com aumento em volume de 20,5%, perdendo apenas para os Estados Unidos e União Européia.

Com a globalização da economia, as barreiras sanitárias assumiram grande importância no comércio internacional de produtos de origem animal, uma vez que os países importadores procuram evitar a entrada de patógenos em seus sistemas de produção. Assim, torna-se imprescindível ao setor avícola nacional, atuar no sentido de sua estruturação para o alcance dos padrões internacionais de sanidade, de forma que os produtos brasileiros possam competir nos mercados, livres de qualquer tipo de restrição sanitária.

Este crescimento da produção avícola tem estimulado práticas de manejo como o aumento do número de lotes reutilizando a mesma cama e

intervalos menores de vazão sanitário para a redução de custos operacionais. Em virtude deste manejo, ocorre a proliferação de microrganismos patogênicos, dentre os quais destacam-se o *Clostridium perfringens* e a *Salmonella* spp. (JORGE, 1990).

PAULUS & RUCKEBUSH (1996) constataram que as perdas econômicas causadas pelo *Clostridium perfringens* (bactéria responsável pela Enterite Necrótica, caracterizada como um bastonete Gram positivo, esporulado, com alta resistência ambiental), nem sempre decorrem da mortalidade, mas pela absorção deficiente de nutrientes, anorexia e alta conversão alimentar. Por outro lado, a *Salmonella*, bactéria caracterizada como um bastonete Gram negativo, assume maior importância em Saúde Pública, por serem as aves o maior e mais importante reservatório individual de *Salmonella* spp existente na natureza e um dos veículos mais importantes dentre os causadores de toxinfecções no homem (GAST, 1997). As Salmoneloses se destacam ainda pelas suas características de endemicidade, morbidade e, em particular, pela dificuldade de seu controle. Tais aspectos decorrem dos múltiplos parâmetros epidemiológicos envolvidos, circunstanciados, principalmente, pelas inúmeras fontes de infecção, pela diversidade de espécies afetadas e vias de transmissão presentes no ciclo (HOFER, REIS, 1994).

O trabalho objetivou verificar a contaminação por *Clostridium perfringens* e *Salmonella* spp. em camas de frango, novas e reutilizadas, relacionando a proliferação das mesmas com o efeito do pH, desempenho e taxa de mortalidade das aves.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Gênero *Salmonella*

O gênero *Salmonella* pertence à família Enterobacteriaceae, compreendendo microrganismos patogênicos para o homem e animais. Tal gênero foi criado por Lignières, em 1900, em homenagem a Daniel Salmon, Médico Veterinário e Microbiologista responsável pela caracterização do agente do paratifo suíno em 1884 (CORRÊA, CORRÊA, 1992).

As *Salmonellas* são bastonetes Gram-negativos, anaeróbios facultativos que medem de 0,7 a 1,5 por 2,0 a 5,0 μm . A maioria dos sorovares são móveis devido à presença de flagelos peritríquios, produzem gás a partir da fermentação da glicose e gás sulfídrico a partir da redução do enxofre por ação da enzima cisteína desulfidrase. São capazes de descarboxilar os aminoácidos lisina e ornitina, reduzir nitratos a nitritos e utilizar o citrato como fonte de carbono (HOLT *et al.*, 1994). Crescem em temperatura ótima de 37° C, mas já foram observados crescimentos em temperaturas entre 5° e 45° C, crescem ainda em pH variando entre quatro e nove, com ótimo crescimento em pH 7 (GAST, 1997).

Possuem estrutura antigênica complexa, com três tipos de antígenos: somático (O), composto de lipopolissacárideos da parede celular, termoresistente; flagelar (H) constituído de proteínas dos flagelos peritríquios,

termolábil; capsular (Vi), somente encontrado em *S. Typhi*, *S. Dublin* e *S. Hirchfeldii* (BARON, PETERSON, FINEGOLD, 1994).

De acordo com o Manual Bergey's of Determinative Bacteriology, todos os sorovares de *Salmonella* conhecidos (incluindo o antigo gênero *Arizona*) pertencem a duas espécies: *Salmonella bongori* e *Salmonella cholerasuis*. *S. bongori* contem menos de dez sorovares que são considerados raros. *S. cholerasuis* contem mais de 2.500 sorovares conhecidos e possui seis subespécies: *S. cholerasuis* subespécie *cholerasuis*, *S. cholerasuis* subespécie *arizonae*, *S. cholerasuis* subespécie *diarizonae*, *S. cholerasuis* subespécie *salamae*, *S. cholerasuis* subespécie *houtenae*, *S. cholerasuis* subespécie *indica* (HOLT et al., 1994).

POPOFF, BOCKMÜHL, BRENNER (1998), em classificação mais recente, informam que o gênero *Salmonella* consiste em duas espécies, *S. enterica* e *S. bongori*, sendo a espécie *S. enterica* subdividida em seis subespécies: *S. enterica* subespécie *enterica*, *S. enterica* subespécie *arizonae*, *S. enterica* subespécie *diarizonae*, *S. enterica* subespécie *salamae*, *S. enterica* subespécie *houtenae*, *S. enterica* subespécie *indica*. Os sorovares pertencentes à *S. enterica* subespécie *enterica* são designados por nomes usualmente relacionados aos locais geográficos ou a fatores relacionados às situações em que os sorovares foram primeiramente isolados.

Baseado nesta taxonomia, POPPE (1999) coloca que todos os sorovares de *S. enterica* subsp. *enterica* devem ser escritos em letras romanas, não italizadas, com a primeira letra maiúscula. Assim, *S. enterica* subsp. *enterica* sorovar Enteritidis é referido como *Salmonella* Enteritidis.

Salmonella Pullorum, *S. Gallinarum* e muitos outros sorovares, tidos como *Salmonellas* paratíficas, podem estar envolvidos em infecções aviárias. Tais sorovares possuem algumas propriedades bioquímicas peculiares. GAST (1997) relaciona que as *Salmonellas* paratíficas típicas fermentam glicose (produzindo ácido e gás), dulcitol, manitol, maltose e mucato, mas não fermentam lactose, sacarose, malonato ou salicina. As *Salmonellas* paratíficas podem ainda produzir gás sulfídrico em vários tipos de meio, descarboxilar

ornitina e lisina, utilizar o citrato como única fonte de carbono e reduzir nitratos a nitritos.

Algumas diferenças bioquímicas são também utilizadas na distinção de *S. Pullorum*, *S. Gallinarum* e *S. Arizonae* das *Salmonellas* paratíficas. *S. Arizonae* não fermenta o dulcitol, mas freqüentemente fermenta o malonato. *S. Pullorum* não fermenta mucato ou dulcitol e *S. Gallinarum* não descarboxiliza ornitina e não produz gás a partir da fermentação da glicose. Somando-se a estas características, *S. Pullorum* e *S. Gallinarum* são imóveis, enquanto as *Salmonellas* paratíficas são móveis (GAST, 1997).

2.1.1. Salmoneloses Aviárias

As salmoneloses das aves são clinicamente classificadas em três doenças: a pulorose, causada pela *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorovar Pullorum; o tifo aviário, causado pela *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorovar Gallinarum; e as infecções paratíficas, determinadas pelos sorovares não adaptados às aves, os quais, muito freqüentemente podem causar toxinfecções alimentares em humanos (NASCIMENTO *et al.*, 1997).

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

A pulorose é uma doença infecciosa que atinge especialmente pintinhos e peruzinhos, sendo freqüentemente caracterizada por diarréia esbranquiçada e alta mortalidade em aves jovens, com adultos portadores assintomáticos. A transmissão ocorre principalmente por via transovariana, embora seja admitida a penetração pela casca do ovo, mas em menor intensidade. Outra forma de transmissão também importante é a horizontal,

onde pintos infectados verticalmente nascem e infectam outros no nascedouro, pelos sistemas digestivo e respiratório, com extensa disseminação (SHIVAPRASAD, 1997).

Salmonella Gallinarum, responsável pelo tifo aviário, causa doença sistêmica em aves domésticas, com curso agudo ou crônico e mortalidade moderada ou muito alta. Ocorre com maior frequência em aves adultas, mas tem sido também relatada em aves jovens e pintinhos. Pode ser transmitida de várias maneiras sendo que as aves portadoras são os mais importantes agentes disseminadores e perpetuadores da infecção, sendo comum o contágio por contato entre aves infectadas e suscetíveis. A transmissão via ovo é possível, embora tenha menor importância (NASCIMENTO *et al.*, 1997).

As *Salmonellas* não adaptadas às aves, *Salmonellas* paratíficas, podem causar doença clínica e comprometer a produção avícola com perdas econômicas (BARROW, 1993), mas podem também infectar as aves sem manifestar sintomas e determinar lesões aparentes, acarretando a presença de aves portadoras que possuem importante significado para Saúde Pública.

As *Salmonellas* paratíficas, ao serem introduzidas nas granjas através da ração ou pela via vertical, trazem conseqüências desastrosas para a avicultura industrial, pois as aves infectadas podem excretar *Salmonella*, contaminar o meio ambiente e infectar outras aves e seus subprodutos (NAGAJARA, 1991).

Muitos sorovares de *Salmonella* já foram isolados de aves com ou sem apresentação de quadro clínico do paratifo aviário. O mais comum é a *S. Typhimurium*, mas outros, entre eles *S. Enteritidis*, *S. Agona*, *S. Infantis*, *S. Hadar*, *S. Senftenberg* e *S. Heidelberg* foram identificados como agentes etiológicos do paratifo aviário (BERCHIERI JÚNIOR, 2000).

POPPE (1999) observa que *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* e *S. Heidelberg* são as principais *Salmonellas* causadoras do paratifo aviário. Estes sorovares podem ocasionalmente infectar os ovários, oviduto e conteúdo dos ovos.

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

DESMIDT, DUCATELLE, HAESEBROUCK (1997) observaram por meio de inoculações experimentais com *S. Enteritidis*, fagotipo quatro, em aves com quatro semanas de idade, a presença de infiltrações de heterófilos, mostrando a tendência de *S. Enteritidis* se localizar nos ovários podendo contaminar os ovos e conseqüentemente a progênie. THIAGARAJAN, SAEED, ASEM (1994) em trabalhos com poedeiras mostraram que *S. Enteritidis* pode colonizar as membranas dos folículos pré-ovulatórios através de interação com as células da camada granulosa.

Contudo, existem outras possibilidades pelas quais *S. Enteritidis* pode ser transmitida para os ovos. Infecção do oviduto pode resultar na contaminação da albumina e contaminação dos ovos durante a formação. Há também a possibilidade dos ovos se tornarem contaminados após a formação da casca pelo contato com fezes contaminadas na cloaca ou mesmo no ambiente (MCILROY *et al.*, 1989).

Os ovos incubáveis podem se tornar contaminados por *Salmonella* spp. após a postura, ainda nos ninhos, nos galpões de matrizes, nos caminhões e no próprio incubatório, caracterizando a transmissão horizontal do microrganismo. Nas incubadoras e nascedouros, as condições de temperatura e umidade existentes contribuem para a proliferação de *Salmonella* spp. (COX, BERRANG, CASON, 2000). De acordo com COX *et al.*, 1991, os embriões podem ser contaminados na incubadora, com maior freqüência nos nascedouros, durante a bicagem dos ovos e eclosão, e ainda há possibilidade de contaminação durante o transporte dos pintinhos para as granjas.

CASON, COX, BAILEY (1994) verificaram, através de inoculação experimental, a possibilidade de ovos incubados, positivos para *Salmonella*, presentes em uma única bandeja contaminar os pintinhos de bandejas

adjacentes em um mesmo nascedouro. Os autores observaram 44 % dos tratos intestinais de pintinhos positivos para *Salmonella* Typhimurium indicando que o microrganismo, em nascedouro contaminado, pode alcançar o intestino de pintinhos procedentes de ovos livres de *Salmonella*, antes de serem retirados dos nascedouros.

A contaminação no incubatório pode resultar em exposição dos pintinhos recém-eclodidos às *Salmonellas*, no momento em que as aves são mais suscetíveis à colonização do trato intestinal (BAILEY, COX, BERRANG, 1994, BYRD *et al.*, 1998). FERREIRA (2000) ressalta que os pintinhos são passíveis de colonização por *Salmonella* do grupo paratifóide e outros enteropatógenos nos primeiros sete dias de vida, e a instalação gradual de uma microbiota intestinal torna a ave menos suscetível a este patógeno.

Em frangos de corte, as infecções por *S. Enteritidis* aparecem mais comumente em aves de até duas semanas. Infectadas pela via vertical, ocorre alta mortalidade neste período, seguido de falta de uniformidade no lote, apatia e prolongada excreção fecal (SUZUKI, 1994, GAST, HOLT, 1998).

GAST, BEARD (1989) inocularam oralmente com *S. Typhimurium*, pintinhos com idade de 1 a 8 dias e observaram que a mortalidade decrescia a medida que a idade de inoculação aumentava. Observaram também que ocorria uma persistência de *S. Typhimurium* no ceco das aves inoculadas nas diferentes idades até sete semanas após a inoculação, evidenciando que a *Salmonella* consegue permanecer no trato entérico, transformando essas aves em portadoras e possíveis fontes de toxinfecção alimentar para seres humanos.

DESMIDT, DUCATELLE, HAESBROUCK (1997) conduziram estudos para verificar a patogênese da infecção experimental por *S. Enteritidis* fagotipo quatro através da inoculação em pintainhas de um dia e frangas de quatro semanas de idade. Os autores observaram a doença clínica com mortalidade de 8% nas aves que foram inoculadas com um dia de idade sendo encontradas peritonites, pericardite, onfalite e tiflite com nódulos granulomatosos. As aves inoculadas com quatro semanas de idade não

desenvolveram doença clínica, mas na necropsia foram encontradas algumas lesões nos cecos, caracterizando tiflite com nódulos granulomatosos.

Vários outros fatores podem facilitar a disseminação e transmissão horizontal de *Salmonella* em uma granja de frango de corte. NAKAMURA *et al.* (1997) citam que o fluxo do ar influenciou na transmissão horizontal de *S. Enteritidis*, sendo mais rápida em condições onde o fluxo de ar foi menor.

GAST, MITCHELL, HOLT (1998) verificaram a transmissão horizontal de *S. Enteritidis* através do ar e observaram que o isolamento de *Salmonella* foi maior nas penas das aves (77 %) do que nos órgãos (33 %).

DAVIES, WRAY (1995) relatam ainda a importante participação dos ratos na disseminação e persistência de *S. Enteritidis* em ambientes avícolas.

2.1.2. *Salmonella* spp. e Saúde Pública

A toxinfecção humana devido à ingestão de produtos alimentícios contaminados por *Salmonella* tem registros que datam o final do século passado, ocasião em que indivíduos se contaminaram ingerindo carne bovina (BERCHIERI JÚNIOR, 2000).

Em avicultura, a preocupação com *Salmonella* teve aumento em meados da década de 80, quando *S. Enteritidis* fagotipo quatro ocasionou sérios problemas em humanos na Inglaterra (BAXTER-JONES, 1996).

No início da década de 70, CLARK *et al.* (1973) citam casos de toxinfecção humana por *S. Agona* oriunda de aves alimentadas com ração contendo farinha de peixe contaminada.

SOJKA, FIELD (1970), em estudos na Inglaterra observaram que a incidência de *S. Pullorum* e *S. Gallinarum* vinha decrescendo, cedendo seus lugares a outros sorovares. BRUNER (1967), em trabalho relatando sorovares de *Salmonella* em 1253 isolamentos de galinhas e frangos nos Estados Unidos, encontrou resultados parcialmente semelhantes aos de SOJKA, FIELD (1970), sendo *S. Pullorum* e *S. Typhimurium* os sorovares mais isolados.

HUMPHREY, MEAD, ROWE (1988), verificaram aumento da incidência de toxinfecção alimentar por *Salmonella* na Inglaterra. O trabalho mostrou a *S. Typhimurium* como o sorotipo mais freqüente e os produtos de origem avícola a principal fonte de infecção.

SILVA (1997) observa que a *S. Enteritidis*, especialmente os fagotipos quatro e oito, vem se destacando como agente causador de graves infecções humanas de origem alimentar veiculada por produtos avícolas, em vários países do mundo. Segundo NASCIMENTO *et al.* (1997), os ovos e a carne de frango são dois dos produtos mais comumente apontados como veiculadores dos agentes causadores de intoxicações alimentares, especialmente *Salmonella*.

As *Salmonellas* mais comumente envolvidas em casos de intoxicação alimentar em humanos são: *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Hadar*, *S. Senftenberg*, *S. Agona*, *S. Newport*, *S. Montevideo*, *S. Derby*, *S. Bareilly*, *S. Bredeney*, *S. Thompson*, *S. Infantis* e *S. Virchow* (NASCIMENTO, 1996).

No Brasil, FERNANDES (1995) mostrou que houve aumento no número de isolamentos de *Salmonella* Enteritidis em São Paulo. O percentual de isolamento deste sorovar em 1993 correspondeu a 10,1 % das *Salmonellas* isoladas de origem humana e 1,8 % de fontes não humanas. Ocorreram, em 1995, um expressivo aumento que correspondeu a 56,2 % e 43,4 %, respectivamente, dos isolamentos de origem humana e não humana. Esse aumento significativo foi associado à ocorrência de surtos de enfermidades veiculadas por alimentos.

TAVECHIO *et al.* (1996) em estudos complementares ao de FERNANDES (1995) observaram que *S. Enteritidis* foi o sorovar prevalente em ovos, aves (matrizes) e em amostras de ambiente avícola no Estado de São Paulo. Os autores ressaltaram a importância da contaminação das matérias-primas, componentes de ração de aves, pela *S. Enteritidis*, o que representa um preocupante problema para a avicultura e conseqüentemente para a Saúde Pública.

Ainda em São Paulo, cita-se o trabalho realizado pelo Instituto Adolfo Lutz, que identificou durante o período de 1950-1990, 29.369 cepas de *Salmonella* de fontes humanas, sendo 115 cepas de *S. Enteritidis*. Nesse período, este sorovar correspondeu a 0,4 % de todas as *Salmonellas* isoladas (TAUNAY *et al.*, 1996).

HOFER, SILVA FILHO, REIS (1997) analisaram, no período de 1962 a 1991, 2.123 amostras de *Salmonella* isoladas de aves de diversos estados brasileiros e reconheceram 90 sorovares sendo *S. Gallinarum*, *S. Pullorum*, *S. Typhimurium*, *S. Heidelberg*, *S. Enteritidis* e *S. Infantis* os sorovares mais freqüentes no período. Neste trabalho os autores observaram, no período supracitado que a *S. Pullorum* e *S. Gallinarum* foram os sorovares tidos como muito freqüentes. Ainda segundo os autores a *S. Enteritidis* passou de sorovar freqüente, no período de 1972 a 1981, para muito freqüente no período de 1982 a 1991.

BEARD (1997) informou que, nos Estados Unidos, surtos de Salmoneloses em humanos ocorreram, principalmente, em pessoas com problemas imunológicos, pacientes submetidos a transplante de órgãos e quimioterapia para o câncer, sugerindo que deve haver uma pressão sobre a indústria avícola para diminuir os níveis de *Salmonella* spp. em seus produtos.

LÍRIO *et al.* (1998) verificaram a freqüência de sorovares de *Salmonella* isolados de alimentos analisados pelo Laboratório de Controle de Alimentos em São Paulo. Foram mais freqüentes os sorovares *S. Enteritidis* (70,6 %), *S. Agona* (3,7 %), *S. Brandenburg* (2,9 %), *S. Hadar* (2,9 %) e *S. Anatum* (2,9 %), sendo que frango in natura e lingüiça crua foram os alimentos que originaram maior número de isolamentos, com 77,1 e 10 %, respectivamente.

PERESI *et al.* (1998) relataram a ocorrência de 23 surtos de enfermidades transmitidas por alimentos causados por *S. Enteritidis*, na maioria pelo fagotipo quatro, no Estado de São Paulo e observaram que o aumento significativo da ocorrência deste patógeno no Estado parece estar associado ao intercâmbio comercial de matrizes com países da Europa.

WALL, WARD (1999) em levantamentos realizados na Inglaterra e País de Gales relataram aumento de isolamentos de *S. Enteritidis* em humanos, especialmente fagotipo quatro, de 11 % em 1981 para 62 % em 1996, sendo os pratos preparados à base de ovos, sobremesas e aves, os alimentos veiculadores em casos de surtos.

2.1.3. *Salmonella* spp. em aves, ambientes avícolas, rações e produtos finais

Bactérias do gênero *Salmonella* podem atingir todos os segmentos da produção de aves para corte tais como: granjas de reprodutoras, incubatórios, granjas comerciais, fábricas de ração, abatedouros, transportes e pontos de comercialização. E, dentro de cada um destes segmentos, a introdução de patógenos deste gênero pode ocorrer por várias vias (BAILEY, 1994).

2.1.3.1. *Salmonella* spp. em incubatórios

A transmissão vertical como via introdutória de *Salmonella* em criações avícolas pode ser confirmada através de análises de forros de caixa de transporte e aves recém-nascidas ainda no incubatório ou mesmo nas granjas. ZANCAN (1998) avaliou a presença de *Salmonella* em caixas de transporte de pintos, de 1 dia, de reprodutoras pesadas e poedeiras comerciais, encontrando percentual de contaminação de 77,13 e 44,45 %, respectivamente. Sendo que *S. Heidelberg* foi o sorovar mais freqüente em amostras de reprodutoras pesadas e *S. Enteritidis* em poedeiras comerciais.

COX *et al.* (1990) avaliaram três incubatórios quanto à presença de *Salmonella* em fragmentos de ovos, swabs do material das esteiras e forro de caixa de pintos, e encontraram, respectivamente, 71%, 80% e 74 % de isolamento nas referidas amostras. Os percentuais de amostras positivos nos três incubatórios foram 67%, 75% e 91%. Foram identificados os sorovares *S. Berta*, *S. Give*, *S. Heidelberg*, *S. Kentucky*, *S. Meleagridis*, *S. Menhaden*, *S.*

Montevideo, S. Neinstedten, S. Ohio, S. Oranienburg, S. Thomasville e S. Typhimurium.

Em trabalho realizado em seis incubatórios COX *et al.* (1991) analisaram fragmentos de ovos, penugens e forros de caixas. Os autores encontraram a presença de *Salmonella* em todas os incubatórios estudados, em níveis que variaram de 1,3 % a 36,0 % das amostras analisadas. Neste estudo encontraram 4,5, 12 e 15,2 % de amostras positivas, respectivamente, em penugens, forros de caixa e fragmentos de ovos. Foram identificados S. Berta, S. California, S. Give, S. Hadar, S. Mbandaka, S. Senftenberg e S. Typhimurium.

FROYMAN, STEPHAN, DAY (1997) acompanharam 79 lotes de frangos de corte através de análises realizadas no incubatório e nos galpões de criação. No incubatório, as análises de swabs de superfície mostraram 55 lotes positivos, ou seja, 69,62%. *Salmonella* Senftenberg, S. Infantis, S. Hadar, S. Heidelberg e S. Virchow foram os sorovares detectados.

2.1.3.2. Salmonella spp. em matérias-primas e rações avícolas

As rações são consideradas uma das principais fontes de *Salmonella* para lotes avícolas, desempenhando importante papel na epidemiologia das infecções por este agente em plantéis avícolas.

BHATIA *et al.* (1979) avaliaram rações colhidas diretamente nos depósitos e silos de quinze lotes de frangos de corte no Canadá. As amostras foram colhidas antes do alojamento das aves e após seis semanas de criação. Os autores encontraram 21,09 % de amostras positivas para *Salmonella* na coleta realizada à sexta semana e identificaram os sorovares S. Havana e S. Heidelberg. Adicionalmente às rações, 90 amostras de fígado e intestinos de aves refugos com cinco dias de idade, foram analisadas obtendo positividade em 6,6 % das amostras, sendo detectado os sorovares S. Infantis, S. Bredeney, S. Heidelberg. Acrescenta-se que os sorovares encontrados nas rações e nas aves foram também observados na cama do aviário.

GIRÃO *et al.* (1985) examinaram 94 amostras de matérias-primas e rações para aves provenientes de sete estados brasileiros, e encontraram um

total de 14,90% de amostras positivas, sendo que as amostras de concentrado e ração tiveram um percentual de contaminação de 7,79%. Foram encontrados os sorovares *S. Anatum*, *S. Infantis*, *S. Senftenberg*, *S. Dublin*, *S. Gallinarum*, *S. Saintpaul*, *S. 3,10:-:1,7* e *S. 6,7:-*.

BERCHIERI JUNIOR *et al.* (1989) conduziram estudo colhendo amostras semanalmente durante o período total de criação de um lote de frangos de corte. Detectaram 22 sorovares de *Salmonella*, sendo 19 destes encontrados em farinha de carne, nove na ração, nove na cama das aves e quatro nas fezes de ratos. Estes dados permitiram a constatação de que a farinha de carne foi a principal fonte de contaminação para as aves, através da ração.

Na Holanda, JACOBS-REITSMA, BOLDER, MULDER (1994) verificaram, através de amostras cecais coletadas ao abate, a presença de *Salmonella* em 27 % de 181 lotes de frangos de corte. Neste trabalho, os autores encontraram correlação entre o uso de rações com ingredientes de origem animal e a presença de *Salmonella* nos lotes avaliados.

HOFER, SILVA FILHO, REIS (1998) caracterizaram antígenicamente cepas de *Salmonella* isoladas de matérias-primas e rações para aves provenientes de sete regiões distintas do Brasil no ano de 1976 e durante o período 1979 a 1991. Foram reconhecidos 151 sorovares, dentre os quais os mais freqüentes foram: *S. Montevideo*, *S. Senftenberg*, *S. Havana*, *S. Mbandaka*, *S. Tennessee*, *S. Infantis*, *S. Agona*, *S. Anatum*, *S. Cerro* e *S. Bredeney*.

Apesar das matérias-primas de origem animal serem as principais responsáveis pela contaminação das rações há também a possibilidade de contaminação proveniente de matérias-primas de origem vegetal.

ALBUQUERQUE, ITO, MIYAJI (1999) analisaram 136 amostras de matérias-primas para rações animais colhidas em uma fábrica de ração comercial e encontraram 19,85 % de amostras contaminadas. Neste estudo foram encontrados 50, 12,5 e 7,5 %, respectivamente, de matérias-primas de origem animal, matérias-primas vegetais e industriais e derivados lácteos contaminados por *Salmonella*. Os mesmos autores analisaram ainda 38

amostras de rações destinadas a aves reprodutoras pesadas e swabs de pó colhidos na fábrica de ração, sendo encontrada uma amostra positiva nas rações para aves e nenhuma amostra positiva nos swabs de pó.

PINTO (2000) observa que nos países onde ocorre à criação intensiva de aves, as *Salmonellas* podem estar constantemente retornando às criações, através das farinhas de origem animal, fabricadas a partir de animais contaminados com *Salmonella*, com processamento inadequado.

2.1.3.3. *Salmonella* spp. na cama de aviários

Entre os métodos para a detecção de *Salmonella* nos galpões de frango de corte estão a cultura direta do material de cama e a cultura de swabs de arrasto colhidos na cama do aviário. Segundo COHEN *et al.* (1994) a técnica do swab de arrasto tem se mostrado tão sensível quanto a técnica de cultura direta do material de cama.

No Canadá, BHATIA *et al.* (1979) avaliaram amostras de cama de quinze lotes de frangos de corte e concluíram ter sido a cama a fonte que introduziu *Salmonella* na criação. Foram encontrados 17,1, 22,8 e 24 % de amostras positivas para *Salmonella* respectivamente na cama nova, colhida antes do alojamento das aves, cama coletada aos cinco dias de criação e na cama coletada às seis semanas de criação. Foram identificados os sorovares: *S. Infantis*, *S. Bredeney*, *S. Havana*, *S. Johannesburg*, *S. Montevideo* e *S. Drypool*.

COHEN *et al.* (1994) em pesquisa utilizando swabs de arrasto para a detecção de *Salmonella* em dezoito galpões de frangos de corte, encontraram 100 % dos galpões positivos utilizando a técnica da reação em cadeia pela polimerase (PCR) e 83 % de positividade quando trabalharam com o cultivo bacteriológico convencional.

READ *et al.* (1994) comparando dois protocolos para o isolamento de *Salmonella* avaliaram 209 amostras de cama colhidas em dezoito lotes de frangos de corte no Canadá. Houve diferença de isolamento entre os métodos, sendo que o método onde se empregou pré-enriquecimento em água peptonada tamponada, enriquecimento em ágar semi-sólido modificado

Rappaport Vassiliadis e plaqueamento em ágar MacConkey apresentou 46,9 % de amostras positivas. O outro método testado, onde se utilizou caldo Tetrionato e Verde Brilhante no enriquecimento e plaqueamento em ágar Verde Brilhante com Novobiocina e Xilose Lisina Tergitol 4 (XLT4) apresentou 29,7 % de amostras positivas. Os sorovares isolados pelos autores foram *S. Heidelberg*, *S. Hadar*, *S. Anatum*, *S. Infantis*, *S. Berta*, *S. Saintpaul*, *S. Enteritidis* fagotipo 8 e *S. O:r:2*, sendo que *S. Heidelberg* e *S. Anatum* foram isolados com maior frequência pelo método que empregou a água peptonada tamponada no pré-enriquecimento.

CALDWELL *et al.* (1995) avaliaram, por meio de swabs de arrasto de cama de aviário, 31 granjas de frangos de corte, através de amostragens realizadas em quatro períodos distintos. Identificaram 25 sorovares de *Salmonella*, sendo *S. Derby*, *S. Hadar* e *S. Kentucky* os mais frequentes. Somente em sete granjas foram detectados os mesmos sorovares nas quatro amostragens realizadas e em cinco granjas os mesmos sorovares foram detectados em amostragens consecutivas. Estes resultados sugerem que os sorovares de *Salmonella* isolados de granjas de frangos de corte ocorrem aleatoriamente sem nenhuma relação aparente.

DAVISON, BENSON, ECKROADE (1995) citam que o isolamento de *Salmonella* ocorre com maior frequência através de swabs de arrasto secos. BYRD *et al.* (1997) observaram resultados contrários, sendo que o isolamento de *Salmonella* através de swabs de arrasto umedecidos em leite desnatado esterilizado em dupla concentração (66,7 %) foi maior do que o isolamento realizado com swabs secos (40 %). Foram identificados *S. Heidelberg*, *S. Kentucky*, *S. Oranienburg*, *S. Agona*, *S. Montevideo* e *S. Senftenberg*.

SASIPREEYAJAN *et al.* (1996) em estudo de prevalência de *Salmonella* em treze galpões de frangos de corte na Tailândia encontraram 100 % dos galpões positivos, sendo as amostras de cama as que tiveram maior frequência de contaminação, com 57 % de amostras positivas.

FROYMAN, STEPHAN, DAY (1997) utilizaram swabs de superfície para verificar a presença de *Salmonella* no ambiente de 79 aviários de frangos de corte. Os autores encontraram 25 aviários positivos, sendo identificados os

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

MARTIN, MCCANN (1998) em trabalho avaliando camas de frango na Geórgia, Estados Unidos da América, analisaram 86 amostras e não detectaram a presença de *Salmonella*.

CALDWELL *et al.* (1998) compararam o isolamento de *Salmonella* através de swabs de arrasto e de proteções para calçados utilizados nas granjas de frangos de corte e observaram que *Salmonella* foi detectada com igual frequência pelos dois métodos tanto em galpões ocupados como em galpões vazios.

BYRD *et al.* (1999) amostraram 196 granjas de frangos de corte pelo método do swab de arrasto e encontraram 42 % dos lotes positivos para *Salmonella*, sendo *S. Heidelberg* e *S. Kentucky* os sorovares encontrados com maior frequência.

2.1.3.4. *Salmonella* spp. em amostras de abatedouro

As carcaças de frangos podem apresentar uma grande variedade de microrganismos, entre eles as *Salmonellas*. Estas se encontram no frango vivo, que as adquire no seu ambiente criatório e se disseminam nas carcaças durante as operações de abate. Um pequeno número de aves portadoras é suficiente para provocar a contaminação cruzada durante o processo de abate (ALMEIDA, SILVA, ALMEIDA, 1993).

BHATIA, MCNABB (1980), LAHELLEC, COLIN (1985) demonstraram que sorovares de *Salmonella* isolados de amostras de incubatório podem ser subseqüentemente isolados nos galpões de criação e nas carcaças após o processamento, evidenciando a possibilidade de contaminação do produto final e o perigo potencial para os consumidores.

GIORGI (1982) avaliou 500 amostras de fezes colhidas de aves ao abate no Estado de São Paulo e encontrou 2,6 % de amostras positivas, caracterizando a condição de portadoras desempenhadas pelas aves e o perigo potencial para a contaminação das carcaças. Neste estudo *S. Typhimurium* e *S. Anatum* foram os sorovares mais freqüentes.

Na França, LAHELLEC, COLIN (1985) avaliaram 617 amostras do ambiente de abatedouros e de fragmentos de pele do pescoço de frangos ao abate, e encontraram 33,4 % de amostras positivas para *Salmonella*.

Em estudo de prevalência de *Salmonella* em carcaças de frango em Portugal, BERNARDO, MACHADO (1989) encontraram 55 % de amostras positivas sendo *S. Enteritidis* o principal sorovar isolado. Este sorovar foi também o mais freqüente em casos de Salmoneloses aviárias e humanas.

IZAT, KOPEK, MCGINNIS (1991) avaliaram a incidência de *Salmonella* em carcaças de frangos congeladas distribuídas no comércio varejista em Fayetteville - Arkansas, originadas de criações convencionais e de criações tidas como naturais ou orgânicas. Os autores detectaram contaminação em carcaças provenientes de ambos os tipos de criações e diferenças nos sorovares isolados. *Salmonella* Typhimurium foi detectada apenas em carcaças provenientes de criações orgânicas, enquanto que *S. Paratyphi* e *S. Arizonae* foram isoladas em carcaças provenientes de ambos os tipos de criações.

No Estado do Arkansas – U.S.A., WALDROUP *et al.* (1992) conduziram estudos para avaliar o efeito da densidade de criação de frangos de corte sobre a contaminação de carcaças ao abate, porém não encontraram relação entre estes parâmetros.

NUNES *et al.* (1995), em Goiânia-GO analisaram 53 amostras de carcaças e cortes comerciais de frangos e observaram uma freqüência média de *Salmonella* de 13,2 %, sendo identificados os sorotipos: *S. Brandenburg*, *S. Typhimurium*, *S. Agona*, *S. Derby* e *S. Hadar*.

No município de Jaboticabal – São Paulo, COSTA *et al.* (1997) analisaram 150 amostras de carcaças e cortes de frangos e encontraram 18 % de amostras positivas para *Salmonella*. Neste estudo foram identificados *S. Senftenberg*, *S. Schwarzengrund*, *S. Minnesota*, *S. I 4,5,12:r:-*, *S. Heidelberg*, *S. Anatum*, *S. Hadar*, *S. Enteritidis*, sendo este último sorovar predominante neste estudo.

Ainda em Jaboticabal, SANTOS (1998), trabalhando com quatro marcas comerciais de carcaças de frangos congelados adquiridos no comércio

varejista, constatou a presença de *Salmonella* em 32 % das amostras. Foram identificados os seguintes sorotipos: *S. Agona*, *S. Anatum*, *S. Enteritidis*, *S. Hadar*, *S. Havana*, *S. Mbandaka*, *S. Montevideo*, *S. Ouakam*, *S. Poona*, *S. Schwarzengrund* *S. Enteritidis* foi o sorovar predominante.

2.2. *Clostridium perfringens*

O *Clostridium perfringens* é um bastonete de extremidade arredondada ou aguçada, reto, Gram positivo, imóvel, e seus esporos são subterminais (HOBBS, 1972). Produz vários tipos de toxinas como: alfa, beta, epsilon, teta, iota, kappa, lambda e mú, capazes de provocar patologias diversas (CARTER, 1988).

2.2.1. Enterite necrótica e microbiota normal

A enterite necrótica em frangos foi primeiramente descrita por PARISH (1961), o qual estabeleceu o *Clostridium perfringens* como o causador da doença.

BEER (1981) descreveu que o *Clostridium perfringens* causa enfermidades inflamatórias e edematosas de curso agudo em bovinos (gangrena gasosa) ou problemas digestivos como a enterotoxemia, devido à contaminação pela via digestiva. Ainda GUERREIRO *et al.* (1984) ressalta que a via de entrada desse microrganismo é a digestiva.

A cama, assim como as fezes ou esterco de galinhas poderão, portanto, ser grandes veículos dessas doenças, como descrito por ALEXANDER *et al.* (1968).

A Enterite Necrótica também foi demonstrada em perus (DROUAL, 1994). O mesmo autor cita também o fato que a doença provoca pouca mortalidade, mas baixa performance em perus, que foram instalados em um galpão em que a cama estava altamente contaminada por *Clostridium perfringens*. Esse microrganismo pode ser um constituinte da microbiota intestinal, podendo às vezes causar infecções e necroses na mucosa atingindo também o fígado. Esse agente pode ser isolado principalmente do intestino grosso e ceco de aves jovens aparentemente saudáveis, da cama, da ração,

podendo ou não desenvolver uma enfermidade. De acordo com SMITH (1988), aves afetadas apresentam-se com má pigmentação, crescimento deficiente, depressão, perda de apetite, penas arrepiadas, fezes escuras, sanguinolentas ou aquosa ou às vezes assintomática.

Existe uma microbiota natural do trato gastrointestinal dos animais de difícil definição, composta de aproximadamente 400 espécies em equilíbrio entre si e com o hospedeiro. Esta população começa a se estabelecer logo após o nascimento. Após o estabelecimento da microbiota intestinal, o número de bactérias diminui, exceto os lactobacilos que se tornam predominantes no intestino delgado (BIOTECNAL, 1997). O trato intestinal tem um sistema de defesa contra bactérias indesejáveis, que envolve o sistema imunológico e bactérias antagonistas. Um desequilíbrio nesse sistema de regulação deixa o animal susceptível à invasão por enteropatógenos.

FERNANDES *et. al.* (2000) relatam que os desequilíbrios da microbiota intestinal estão associados ao estresse, qualquer que seja sua forma (doença, trocas de alimento, uso de antibióticos, mudanças bruscas de ambiente e altas temperaturas).

Parte da seleção da microbiota do intestino é química, devido a agentes inibitórios como ácidos graxos voláteis, ácido sulfídrico, bile, lisozimas e lisolecitinas (FULLER, 1984) e imunoglobulinas. Quando as bactérias sobrepõem estas barreiras, devem ainda lutar contra o fluxo constante resultante dos movimentos peristálticos. As bactérias permanecem no intestino de duas maneiras: pela adesão às células epiteliais que revestem o intestino ou crescendo mais rapidamente do que são removidas pelo peristaltismo (FULLER, 1989).

A população microbiana intestinal de um animal saudável é enorme, sendo que os anaeróbios facultativos e os obrigatórios podem estar presentes em concentrações de 10^9 e 10^{11} /g de digesta respectivamente (LADINEK, 1970). Estima-se que há 10^{14} bactérias no intestino, portanto, as bactérias do trato digestivo têm uma grande influência no metabolismo, na fisiologia e na nutrição do animal hospedeiro (FULLER, 1989).

2.3. Efeito da amônia e pH na criação de frangos de corte

O aumento da quantidade de água eliminada na urina e fezes traz problemas com relação à elevação dos teores de umidade da cama aviária afetando diretamente a sua qualidade, favorecendo, portanto, o desenvolvimento de doenças e aumento da quantidade de amônia liberada.

Avaliando o efeito da quantidade de amônia presente na cama aviária sobre o desempenho das aves, ATTAR & BRAKE (1989) mostraram que valores acima de 36 ppm de amônia causaram perdas econômicas para o integrador e integrado.

Entretanto, HERNANDES (1997) relatou que água em excesso ou sua falta na cama aviária, induz a diminuição do potencial de liberação de amônia, pois o processo de liberação desta é microbiológico, em que os microrganismos decompositores de compostos nitrogenados, durante a fermentação da cama, fazem com que ocorra, conseqüentemente, perda de nitrogênio por volatilização da amônia (NH_3), aumentando sua concentração no ambiente, o que é prejudicial ao desempenho das aves. Concluiu ainda que o excesso de umidade acima de 35% ou a falta de umidade abaixo de 20% prejudicam o desenvolvimento desses microrganismos, sendo que os maiores níveis de amônia foram observados quando a umidade chegou a 30%.

A amônia é um gás incolor e irritante às mucosas, sendo formado a partir da decomposição microbiana do ácido úrico eliminado pelas aves. Quando a quantidade de amônia inalada é superior a 60 ppm, a ave fica predisposta a doenças respiratórias, aumentando os riscos de infecções secundárias às vacinações. Quando o nível de amônia no ambiente atinge 100 ppm, há redução da taxa e profundidade da respiração, prejudicando os processos fisiológicos de trocas gasosas. Esses níveis altos de amônia (60 a 100 ppm) podem ser observados no início da criação em galpões, com a reutilização da cama (GONZÁLES & SALDANHA, 2001).

O pH da cama tem influência direta sobre os níveis de amônia no ar. A volatilização da amônia é baixa, quando o pH é menor que 7, e aumenta, à medida que o pH se eleva (REECE *et al.*, 1979).

O pH abaixo de 7 e íons H^+ na cama fazem com que aumente a

proporção amônio:amônia, ou seja, mais amônia será convertida em íon amônio que não é volátil. A amônia volatiliza porque não possui carga elétrica (MOORE JR. *et al.*, 2000). O pH influencia a volatilização da amônia (IVOS *et al.*, 1966), pois em pH neutro ou abaixo de 7 não há crescimento da bactéria *Bacillus pasteurianum*, umas das principais bactérias ureolíticas, que se desenvolvem bem em pH acima de 8,5 (TERZICH, 1997). REECE *et al.* (1980) ressaltaram a importância de manter o pH da cama abaixo de 7 para melhor controle da amônia dentro dos barracões, porque com valores acima de 7 há uma maior liberação da amônia da cama, sendo agravada quando supera pH 8.

SAMPAIO (1999) realizando experimento para avaliação da população microbiana e a liberação de amônia em camas de frangos tratadas com diferentes doses de gesso agrícola, evidenciou que a utilização deste em forma parcelada inibiu a volatilização da amônia implicando em decréscimo na contagem padrão de microrganismos.

Como pode ser observada, a amônia pode causar inúmeros prejuízos na produção de frangos, sua monitoração e controle devem merecer atenção dos pesquisadores e produtores.

3. MATERIAL E MÉTODOS

As análises foram realizadas no Laboratório de Microbiologia do Departamento de Patologia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal - UNESP, advindas de criatórios instalados na cidade de Sertãozinho, Estado de São Paulo, região Sudeste do Brasil.

3.1. Colheita das amostras de cama de frango

A colheita das amostras foi realizada em dez galpões. O material utilizado como cama era maravalha de madeira, da qual retirou-se uma amostra, de aproximadamente um quilograma, embaladas em sacos plásticos estéreis, em quatro pontos diferentes e três profundidades de cada galpão, totalizando dez repetições para cada tratamento.

3.2. Tratamentos e delineamento experimental

Foi utilizado o delineamento em blocos casualizado (DBC), com três tratamentos (cama nova e reutilizadas uma e duas vezes) e dez repetições. A análise estatística foi realizada no programa “Statistical Analyses System” (SAS, 1998).

3.3. Método para análise microbiológica e determinação do potencial Hidrogeniônico (pH)

As análises para contagem microbiológica de *Clostridium perfringens* foram realizadas de acordo com as recomendações do "Bacteriological Analytical Manual for Foods" (FDA, 1984).

Foram pesados 25g do material amostrado para cada repetição e diluídos em 225ml de solução de água peptonada a 0,1 %, previamente esterilizada, e submetidos à homogeneização manual por três minutos, sendo esta diluição utilizada também para medição do pH com peagâmetro (marca Analion).

Para o crescimento de *Clostridium perfringens*, realizaram-se diluições seriadas da mesma solução até 10^{-5} . Os tubos contendo as diluições foram submetidos a choque térmico (80°C por 10 minutos e resfriadas em água com gelo, para eliminar contaminantes não esporulados) e posteriormente semeadas em duplicatas, pelo método "pour plate", em placas de Petri contendo meio ágar sulfito-polimixina-sulfodiazina (SPS) esterilizado. As placas foram incubadas em condições de anaerobiose utilizando jarras com sistema Gás-Pak, a temperatura de 35-37°C por 24-48h (HOBBS, 1972; SPECK, 1976), posteriormente realizou-se a contagem das colônias características através do contador da marca Phoenix.

As análises de *Salmonella* seguiram as recomendações de Georgia Poultry Laboratory (1997) e BRASIL (1995), com algumas modificações.

Para as análises de *Salmonella*, um grama de cada amostra de cama, água, *A. diaperinus* (cascudinho) e ração foram enriquecidas inoculando-as em tubos contendo 9mL de caldo tetrionato-novobiocina (TN) e selenito-novobiocina (SN) e incubadas a 42°C por 24 horas. Após este período, 1mL dos caldos foram semeados, com auxílio de alça de platina, em placas contendo meio MacConkey (Difco) e novamente incubados nas mesmas condições. Confirmando-se a suspeita do gênero, colônias transparentes e arredondadas foram isoladas, e inoculadas, em profundidade e superfície, em ágar tríplice açúcar ferro (TSI). As cepas que apresentaram reações e características morfológicas compatíveis com as do gênero *Salmonella*, em

ágar TSI, foram inoculadas nos caldos: uréia, vermelho de metila, lisina, ornitina, arginina, malonato, glicose, lactose, sacarose e nos ágaros fenilalanina, citrato de Simmons e SIM, para a caracterização bioquímica. Estes meios foram incubados a 37° C, por um período de até quatro dias, com leituras diárias.

Unidades bioquimicamente confirmadas como *Salmonella* foram submetidas ao teste sorológico com soro polivalente anti-O e anti-H. Este teste foi realizado em solução salina a 0,85%, a partir de suspensões das culturas com cerca de 18 horas de incubação a 37° C, em ágar nutriente.

As cepas bioquímicas e sorologicamente confirmadas como pertencentes ao gênero *Salmonella* foram encaminhadas, em ágar nutriente, ao Instituto Adolfo Lutz de São Paulo, Brasil.

3.4. Isolamento e identificação de *Clostridium perfringens*

As colônias características de cor preta e medindo 0,2 a 0,5mm, foram observadas macroscopicamente e realizados esfregaços corados pelo método de Gram para observação microscópica confirmando a presença de bactérias Gram-positivas, com forma de bastonete, catalase negativa, anaeróbias e esporuladas, as quais foram repicadas em tubos com contendo caldo infusão de cérebro e coração (BHI-Difco) com tampas de rosca, incubados em anaerobiose a 35-37°C por 24h (DOWELL & HANKINS, 1968). Para confirmar a pureza das cepas, novamente foram repicadas para placas de SPS e incubadas nas mesmas condições supracitadas. As colônias puras foram submetidas à série bioquímica (SCHOCKEN-ITURRINO *et al.*, 1988; CARTER *et al.*, 1995). Verificou-se a presença de gelatinase, motilidade, fermentação de lactose, maltose, sacarose, bem como produção de indol e salicina, utilizando-se o meio de identificação para bactérias anaeróbias da API-bio Mérieux (CARTER *et al.*, 1995, TORTORA *et al.*, 1995).

3.5. Desempenho Zootécnico

O desempenho das aves foi avaliado através do peso inicial (um dia) e final (42 dias), ganho de peso diário, consumo de ração e conversão alimentar aos 42 dias. O ganho de peso foi obtido somando-se o peso total das aves de cada galpão subtraindo-se do peso total inicial; determinou-se o consumo de ração pela diferença entre a quantidade fornecida e a sobra; e a conversão alimentar, dividindo-se o consumo total de ração pelo ganho de peso total das aves de cada galpão. A taxa de mortalidade foi determinada pela diferença entre a porcentagem das aves aos 42 dias em relação ao alojamento das mesmas.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise microbiológica demonstrou haver o crescimento de colônias características de *Clostridium perfringens* produtores de H₂S, como se pode observar na Figura 1.

Os resultados correspondentes às análises microbiológicas da contagem de esporos de *Clostridium* sulfitos-redutores (*Clostridium perfringens*) nos diferentes tratamentos, encontram-se na Figura 2. Pode-se observar pelos dados obtidos que as contagens reduziram-se conforme a reutilização das camas, sendo que os valores totais das contagens transformados em Log₁₀ variaram de 4,82 a 5,83 nas camas novas (T1), de 4,27 a 5,68 nas camas reutilizadas uma vez (T2) de 3,88 a 4,47 nas camas reutilizadas duas vezes (T3).



FIGURA 1 – Colônias características de *Clostridium perfringens* em ágar SPS, obtidas de amostras de cama de frango.

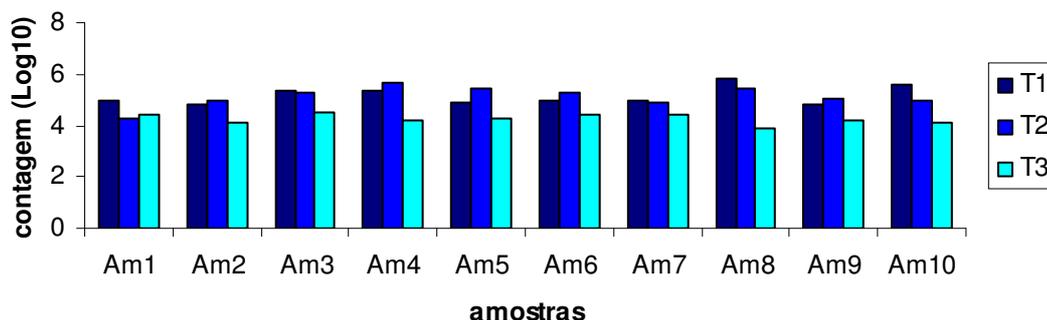


FIGURA 2 – Contagem de *Clostridium* sulfitos-redutores transformados em Log_{10} , em amostras de camas de frango novas, reutilizadas uma e duas vezes, obtidas de dez galpões localizados na cidade de Sertãozinho, região sudeste do Brasil, no período de Fevereiro a Setembro de 2005.

Através dos resultados das medições de pH dos diferentes tratamentos, verificou-se que o tratamento T1 apresentou valores de pH variando entre 7,76 a 8,48 enquanto que o T2 e T3 tiveram a variação de 8,2 a 8,52 e de 8,47 a 8,58 respectivamente, como mostra a Figura 3. Os valores elevados de pH, também foram encontrados por SORBARA (2000), que analisando o pH de cama de maravalha, encontraram valores de 7,7 a 8,5 nas camas com 21 dias de utilização e 8,6 a 8,8 com 49 dias de utilização, devido a maior concentração de amônia dentro dos galpões. REECE *et al.* (1980) ressaltaram a importância de manter o pH da cama baixo para melhor controle da amônia dentro dos galpões, porque com valores acima de sete há uma maior liberação da amônia da cama, sendo agravada quando supera pH 8.

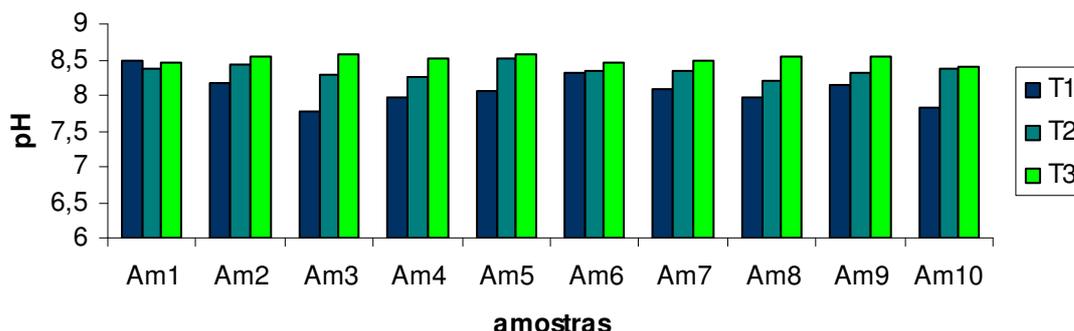


FIGURA 3 – Medidas de pH das amostras de camas de frango novas, reutilizadas uma e duas vezes, obtidas de dez galpões localizados na cidade de Sertãozinho, região sudeste do Brasil, no período de Fevereiro a Setembro de 2005.

Na Tabela 1, encontram-se os resultados da análise estatística das contagens de *Clostridium* sulfito-redutores, pH e desempenho zootécnico dos tratamentos. Pode-se observar que houve diferença significativa ($p < 0,05$) na contagem média de esporos de *Clostridium perfringens* apenas para o T3 em relação ao T1 e T2, sendo este o tratamento com contagem inferior. Por outro lado os tratamentos 1 e 2 não diferiram ($p > 0,05$), porém o T2 apresentou, em média, uma redução numérica quando comparado ao T1, mostrando a tendência de redução da contagem com as progressivas reutilizações da cama.

Para os valores de pH, todos os tratamentos diferiram entre si, sendo que o T3 obteve em média o maior valor de pH, seguido pelo T2 e T1 respectivamente. Este fato deve-se a maior produção de amônia pelas aves, o que diminuiria a viabilidade dos esporos de *Clostridium perfringens* (HOBBS, 1972). A menor contaminação desta bactéria nas camas reutilizadas podem ser devidas ao aumento de pH, o que dificultaria a germinação dos esporos. SPECK (1976), relata que o pH ideal para o crescimento do *Clostridium perfringens* varia de 6,8 a 7,3, sendo que dificilmente conseguem crescer em pH acima de 7,8. Por outro lado, MERCHANT & PACCKER (1975) ressaltam que o pH ideal para o crescimento deste microrganismo varia de 6,5 a 7,5.

Estes dados concordam com os encontrados por TROVÓ (2004), que estudando a contaminação por *Clostridium perfringens* em camas de perus, encontrou valores menores nas camas reutilizadas e maiores valores de pH nas mesmas, porém os valores de pH encontrados variaram de 6,39 nas camas novas e 8,21 nas camas reutilizadas. Este valor de pH superior no presente experimento provavelmente se deve ao material utilizado como cama.

SAMPAIO *et al.* (1999), verificaram redução na contagem padrão de microrganismos quando ocorria a alcalinização da cama devido a maior quantidade de amônia, concordando deste modo com os dados obtidos neste experimento. De modo semelhante, IAFIGLIOLI (2000), observou haver uma tendência à redução na contagem de *coliformes fecais* e *totais* da cama de frango reutilizada, tratadas com diferentes doses de gesso, em relação ao alojamento das aves, porém a análise estatística não mostrou esta diferença.

A conversão alimentar (CA) e o índice de mortalidade (%) sofreram uma redução numérica, porém não estatisticamente significativa, com as reutilizações, provavelmente pela menor contaminação por *Clostridium perfringens*, agente responsável pela diarreia das aves e conseqüentemente pelo menor desempenho (Tabela 1). Os índices de desempenho zootécnico não foram modificados pela presença de *Salmonella* spp. , provavelmente por estarem na forma latente nas aves.

TABELA 1- Análise estatística de pH e contagem de Clostridium sulfito-redutores de camas novas e reutilizadas uma e duas vezes e desempenho zootécnico de frangos de corte criados na região sudeste do Brasil no período de Fevereiro a Setembro de 2005.

Variáveis	Tratamentos			Média	P	CV	EPM
	T1	T2	T3				
Clostridium sulfito-redutor (Log ₁₀)	5,16 a	5,12 a	4,25 b	4,84	**	6,95	0,11
pH	8,08 c	8,34 b	8,51 a	8,31	**	1,60	0,04
CA	1,92 a	1,86 a	1,87 a	1,88	0,30	4,38	0,03
Mortalidade	4,15 a	4,10 a	3,92 a	4,06	0,47	25,23	0,33

Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem entre si (P>0,05). Os valores da contagem microbiológica seguidos pela estatística foram transformados em Log₁₀. A sigla P significa probabilidade, CV coeficiente de variação e EPM erro padrão da média.

Os resultados da análise microbiológica de *Salmonella* encontram-se na Figura 4.

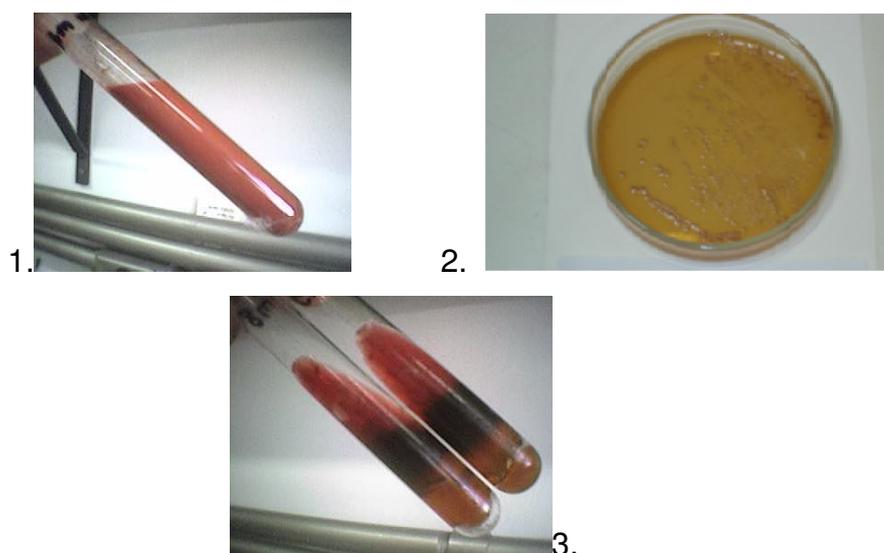


FIGURA 4 – Amostras positivas para *Salmonella* em camas de frango. O número 1 corresponde ao crescimento em meio selenito-novobiocina, o 2 colônias características de *Salmonella* em meio MacConkey e o 3 o resultado do teste de TSI para *Salmonella*.

Foi verificada a presença de *Salmonella* spp. em 26,67% (8/30) das amostras de cama, sendo identificada a *Salmonella* Heidelberg em quatro amostras do T1 e três do T3 e *Salmonella* Mbandaka em apenas uma amostra do T3. As amostras de água, ração e *A. diaperinus* não mostraram-se positivas para a presença de *Salmonella* (Tabela 2).

ROCHA (2001), avaliando a contaminação por *Salmonella*, encontrou os sorovares de *Salmonella* Heidelberg e *Salmonella* Mbandaka em rações de terminação, forros de caixas de transporte de pintos e swabs de arrasto de cama, verificando a presença de *Salmonella* spp. em 55,56% das amostras de forros de transporte, 8,89% nas rações e 11,1% no swab da cama. Estes achados reforçam a importância dos produtos avícolas como veiculadores

desses agentes ao homem (TAVECHIO *et al.*, 1996) e a necessidade de controle relativo às vias de introdução de *Salmonella* spp. em granjas avícolas.

TABELA 2- Porcentagem de amostras positivas para o gênero *Salmonella* em amostras provenientes de uma propriedade localizada na cidade de Sertãozinho, região sudeste do Brasil no período de Fevereiro a Setembro de 2005.

MATERIAL ANALISADO	% DE AMOSTRAS POSITIVAS PARA <i>Salmonella</i> spp	SOROVARES De <i>Salmonella</i>
ÁGUA	0	
RAÇÃO	0	
<i>A. DIAPERINUS</i>	0	
CAMA NOVA (T1)	13,34 (4/30)	<i>Salmonella</i> Heidelberg
CAMA REUTILIZADA 1 VEZ (T2)	0	
CAMA REUTILIZADA 2 VEZES (T3)	13,34 (4/30)	<i>Salmonella</i> Heidelberg (3/4) <i>Salmonella</i> Mbandaka (1/4)

A *Salmonella* spp. também pode estar presente em adultos de *Alphitobius Diaperinus*, popularmente denominado de “cascudinho”. HAREIN *et al.* (1970) isolaram cinco espécies de *Salmonella* identificadas como *S. Heidelberg*, *S. Whorthington*, *S. San Paul*, *S. Thyphimurium* e *S. Mbandaka*. DAVIES & WRAY (1995) não conseguiram isolar *S. Enteritidis* de *A. diaperinus* encontrados em camas de frango, porém em swab de superfície de dois aviários, 22% das amostras continham a bactéria. HAREIN *et al.* (1972) isolaram *Salmonella* spp. da cama e de *A. diaperinus* e concluíram que a cama apresentou um maior número de bactérias quando comparadas às amostras do inseto. No experimento em questão, não foi verificada nenhuma amostra do inseto positiva para este gênero, e a presença de *A. diaperinus* nestes galpões não era freqüente. Do mesmo modo, DAVIES & WRAY (1995), sugerem que *Alphitobius Diaperinus* possa ser relativamente resistente à colonização pela *Salmonella*, sendo a contaminação persistente do ambiente e de animais associada os maiores fatores de risco de infecção.

Em estudos de matérias-primas utilizadas na fabricação de rações de frango de corte como veiculadoras de *Salmonella* spp., BERCHIERI JUNIOR *et*

al. (1984) verificaram a presença de *Salmonella* Mbandaka em 20% das amostras de farinha de pena e 5,88% em farinha de pena e vísceras, sendo que em nenhuma amostra foi isolada a *Salmonella* Heidelberg. De modo análogo, HUGH-JONES *et al.* (1975), encontraram apenas uma amostra positiva para *Salmonella* Mbandaka, como contaminante de farinhas de origem animal. Neste estudo, nenhum sorotipo de *Salmonella* spp. foi isolado da ração, porém a detecção de *Salmonella* Mbandaka na amostra de cama sugere que a ração estava contaminada, uma vez que no alimento formulado é mais difícil a detecção deste agente, pois ocorre uma diluição das matérias primas de origem animal. Todavia, uma célula bacteriana apenas, se ingerida pela ave, tem condições de se multiplicar e promover a colonização dos cecos transformando a ave em um agente de disseminação ou introduzindo o paratifo (MORGAN-JONES, 1980).

MORRIS *et al.* (1969) analisando a disseminação de *Salmonella* em frangos, encontraram 83% de diferentes sorotipos de *Salmonella* nas excretas frescas, sendo estas caracterizadas como *Salmonella* Heidelberg, *Salmonella* Montevideo, *Salmonella* Minnesota e *Salmonella* Emsbeuttel. Nas amostras de água dos bebedouros destas aves, nenhuma foi positiva para *Salmonella*. Estes achados concordam com o presente trabalho, visto que todas as amostras de água foram negativas para a presença de *Salmonella* spp..

Tendo em vista os resultados encontrados, podemos sugerir como hipótese, que a contaminação de *Salmonella* verificada possa ser devida a fatores externos a granja, como a contaminação destas aves já nos nascedouros e incubatórios, bem como nas caixas de transporte, disseminando desta forma a contaminação para dentro dos galpões de criação. Portanto, limpeza, desinfecção ambiental e vazios sanitários são partes importantes no controle e erradicação da *Salmonella* de granjas avícolas.

A pequena quantidade de *Salmonella* Mbandaka encontrada se deve ao baixo isolamento desta no Brasil em relação aos outros sorovares. ANDREATTI FILHO (2001), analisando 73 amostras de frangos de corte e cama isolou apenas 4,12% e 1,38% respectivamente de *Salmonella* Mbandaka. Do mesmo modo, SILVA *et al.* (2002), ao realizar uma revisão sobre

Salmonella, encontrou apenas quatro amostras positivas para este sorovar entre os anos de 1997 a 2001 em matrizes de frangos de corte.

MICHAEL *et al.* (2002), analisando a presença de *Salmonella* spp. nas fezes dos 21 lotes de suínos, encontraram 66,7% de amostras positivas na primeira coleta, sendo que após 40 dias não foi possível detectar este agente. Na primeira coleta, apenas duas amostras foram positivas para *Salmonella* Mbandaka e três amostras positivas para *Salmonella* Heidelberg. O mesmo autor relata que a diminuição do número de animais positivos, aliada ao resultado negativo da ração, pode indicar que muitos animais amostrados na primeira visita estavam excretando *Salmonella* como portadores passivos ou tornaram-se portadores latentes. Estes dados vão de acordo com o encontrado neste trabalho, na medida em que a segunda coleta de camas mostrou-se negativa para *Salmonella*, bem como a análise microbiológica da ração.

5. CONCLUSÃO

Os resultados demonstram que existe a contaminação das camas de frango por *Clostridium perfringens* e a reutilização da cama proporciona um aumento de pH que promove a diminuição da germinação de esporos desta bactéria. Porém a diminuição destes agentes não demonstra melhora significativa nos índices de desempenho zootécnico.

Foi isolada *Salmonella* de camas novas e reutilizadas duas vezes, mostrando que o aumento de pH não foi suficiente para eliminar este patógeno. O índice de desempenho das aves que se encontravam sobre a cama contaminada por *S. Heidelberg* e *S. Mbandaka*, não sofreram variações significativas, porém existe a necessidade de maior controle sanitário dentro das granjas uma vez que estas, em quadro severo, provocam baixo desempenho e elevada mortalidade.

6. REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, R., ITO, N.M.K., MIYAJI, C.I. Estudo da ocorrência de *Salmonelas* em ingredientes, rações e suabes de pó colhidos em uma fábrica industrial de ração. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, v. 36, n. 6, p. 54-61, 1999.

ALEXANDER, D.C., CARRIERE, J.A.J., MACKAY, K.A. Bacteriological studies of poultry litter feed to livestock. Canadian Veterinary journal. v.9, n.6, p.127-131, 1968.

ALMEIDA, P.F., SILVA, E.N., ALMEIDA, R.C.C. Contaminação e disseminação bacterianas de carcaças de frangos em abatedouros. Higiene Alimentar, v.7, n. 27, p. 12-17, 1993.

ANDREATTI FILHO, R.L. Sorovares de *Salmonella* isolados de materiais avícolas no período de 1994 a 1999. Revista de Educação Continuada. Conselho Regional de Medicina Veterinária (CRMV-SP); 4:90-101, 2001.

A.P.A. Associações Paulistas de Avicultura. Disponível em: <www.apa.com.br>. Acesso: 20 set. 2005.

ATTAR, A. J., BRAKE, J. An economic analysis of the effects of ammonia and

its control in broiler houses. *Poultry Science*, v. 68 (suppl. 1), p. 167, 1989.

BAILEY, J.S., COX, N.A., BERRANG, M.E. Hatchery-acquired *Salmonella* in broiler chicks. *Poultry Science*, v. 73, n. 7, p. 1153-1157, 1994.

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

BARON, E.J., PETERSON, L.R., FINEGOLD, S.M. *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology*, 9 ed. Saint Louis: Mosby – Year Book, 1994. p. 362-385.

BARROW, P.A. *Salmonella* control – past, present and future. *Avian Pathology*, v. 22, n. 3, p. 651-669, 1993.

BAXTER-JONES, C. Control de la transmisión vertical de *Salmonella*. *Avicultura Professional*, v. 14, n. 1, p. 18-19, 1996.

BEARD, C.W. Panorama de la *Salmonella* en los Estados Unidos. *Industria Avícola*, v. 44, n. 2, p. 26, 1997.

BEER, J. *Enfermedades infecciosas de los animales domésticos*. Zaragoza: Acribia, 1981. T.2, p. 194-197, 206-219, 223-224. Editorial ACRIBIA – Zaragoza (España), 1981.

BERCHIERI JR, A., IRINO, K., NEME, S. N., PAULILLO, A.C., CALZADA, C.R., FERREIRA, S.A., PESSÔA, G.A.V.. Contaminação por *Salmonella* em farinhas de origem animal utilizadas no preparo de rações. *Pesq. Vet. Brás.* 4(3): 83-88, 1984.

BERCHIERI JÚNIOR, A., ADACHI, S.Y., CALZADA, C.T., PAULILLO, A.C., SCHOKEN-ITURRINO, R.P., TAVECHIO, A.T. Farinha de carne como fonte de *Salmonella* em granja avícola. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 9, n. 1/2, p. 9-12, 1989.

BERCHIERI JÚNIOR, A. Salmoneloses aviárias. In: BERCHIERI JÚNIOR, A., MACARI, M. (Eds.). Doenças das aves. Campinas: Facta, 2000. p.185-195.

BERNARDO, F.M.A., MACHADO, J.C.C. Prevalência de *Salmonella* em carcaças de frango em Portugal: perspectiva epidemiológica em humanos. Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias, v. 84, n. 489, p. 31-45, 1989.

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

BHATIA, T.R., McNABB, G.D. Dissemination of *Salmonella* in broiler-chicken operations. Avian Diseases, v. 24, n. 3, p. 616-624, 1980.

BIOTECNAL. Pesquisa e tecnologia em nutrição. O fantástico mundo dos probióticos. São Paulo, 1997. p.66 (Boletim Informativo)

BRASIL. Portaria SDA nº 126, de 03 de novembro de 1995. Aprova as normas de credenciamento e monitoramento de Laboratórios de Diagnóstico das Salmoneloses Aviárias (*S. Enteritidis*, *S. Gallinarum*, *S. Pullorum*, *S. Typhimurium*). Diário Oficial da União. Brasília, n. 212, p. 17694-17698, de 06 nov. Seção I.

BRUNER, D.W. *Salmonella* cultures typed during the years 1950-1964 for the service laboratories of the New York State University College. Cornell-Veterinarian, v. 57, n. 2, p. 297-301, 1967.

BYRD, J.A., CORRIER, D.E., DeLOACH, J.R., NISBET, D.J. Comparison of drag-swab environmental protocols for the isolation of *Salmonella* in poultry houses. Avian Diseases, v. 41, n. 3, p. 709-713, 1997.

BYRD, J.A., CORRIER, D.E., DeLOACH, J.R., NISBET, D.J., STANKER, L.H. Horizontal transmission of *Salmonella typhimurium* in broiler chicks. Journal of Applied Poultry Research, v. 7, n. 1, p. 75-80, 1998.

BYRD, J.A., DeLOACH, J.R., CORRIER, D.E., NISBET, D.J., STANKER, L.H. Evaluation of *Salmonella* serotype distributions from commercial broiler hatcheries and grower houses. Avian Diseases, v. 43, n. 1, p. 39-47, 1999.

CALDWELL, D.J., HARGIS, B.M., CORRIER, D.E., VIDAL, L., DeLOACH, J.R. Evaluation of persistence and distribution of *Salmonella* serotype isolation from poultry farms using drag-swab sampling. Avian Diseases, v. 39, n. 3, p. 617-621, 1995.

CALDWELL, D.J., HARGIS, B.M., CORRIER, D.E., DeLOACH, J.R. Frequency of isolation of *Salmonella* from protective foot covers worn in broiler houses as compared to drag-swab sampling. Avian Diseases, v. 42, n. 2, p. 381-384, 1998.

CARTER, G.R. Fundamentos de bacteriologia e micologia veterinária. 3. ed. São Paulo: Roca, 1988. 249 p.

CARTER, G.R., CHENGAPPA, M.M., ROBERTS, A.W. Essentials of veterinary microbiology. 5. ed. London: Williams & Wilkins, 394. p.135, 1995.

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

CLARK, G.M., KAUFMANN, A.F., GANGAROSA, E.J., THOMPSON, M.A. Epidemiology of an outbreak of *Salmonella agona*. The Lancet, v. 2, n. 7827, p. 490-493, 1973.

COHEN, N.D., WALLIS, D.E., NEIBERGS, H.L., McELROY, A.P., McGRUDER, E.D., DeLOACH, J.R., CORRIER, D.E., HARGIS, B.M. Comparison of the polymerase chain reaction using genus-specific oligonucleotide primers and microbiologic culture for the detection of *Salmonella* in drag-swabs from poultry houses. *Poultry Science*, v. 73, n. 8, p. 1276-1281, 1994.

CORRÊA, W.M., CORRÊA, C.N.M. Paratífos em geral. In: *Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos*, 2 ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 1992, p. 167-174.

COSTA, F.N., ROSSI JÚNIOR, O.D., NADER FILHO, A., TAVECHIO, A.T. Sorovares de *Salmonella* isolados de carcaças e de cortes de frango obtidos na indústria e no comércio em Jaboticabal, Estado de São Paulo, em 1996. *Revista Brasileira de Ciências Veterinárias*, v. 4, n. 3, p. 97-100, 1997.

COX, N.A., BAILEY, J.S., MAULDIN, J.M. et al. Presence and impact of *Salmonella* contamination in commercial broiler hatcheries. *Poult. Sci.* v.69, p.1606-1609, 1990.

COX, N.A., BAILEY, J.S., MAULDIN, J.M. et al. Extent of *Salmonella* e contamination in breeder hatcheries. *Poult. Sci.*, v.70, p.416-418, 1991.

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

DAVIES, R.H., WRAY, C.. Contribution of the lesser mealworm beetle (*Alphitobius Diaperinus*) to carriage of *Salmonella* Enteritidis in poultry. *Veterinary Record*, 137: 407-8, 1995.

DAVIES, R.H., NICHOLAS, R.A., McLAREN, I.M., CORKISH, J.D., LANNING, D.G., WRAY, C. Bacteriological and serological investigation of persistent

Salmonella enteritidis infection in an integrated poultry organisation. *Veterinary Microbiology*, v. 58, n. 2-4, p. 277-293, 1997.

DAVISON, S., BENSON, C.E., ECKROADE, R.J. Comparison of environmental monitoring protocols for the detection of salmonella in poultry houses. *Avian Diseases*, v. 39, n. 3, p. 475-479, 1995.

DESMIDT, M., DUCATELLE, R., HAESBROUCK, F. Pathogenesis of *Salmonella enteritidis* phage type four after experimental infection of young chickens. *Veterinary Microbiology*, v. 56, n. 1-2, p. 99-109, 1997.

DOWELL, V.R., HAWKINS, T.M.. Laboratory methods in anaerobic bacteriology. New York: U.S. Dept. Health, Education and Welfare, p.1803, 1968.

DROUAL, R., SHIVAPRASAD, H.L., CHIM, R.P. Coccidiosis and necrotic enteritis in turkeys. *Avian Disease, Kennett Square*, v. 38, p. 177-83, 1994.

FERNANDES, S.A. *Salmonella enteritidis*: atual sorotipo no Estado de São Paulo e susceptibilidade aos agentes antimicrobianos. In: Congresso Brasileiro de Microbiologia, 27., São Paulo, 1995. Sociedade Brasileira de Microbiologia. 1995. p. 103.

FERNADES, P. C. C. et al. Viabilidade do uso de probióticos na alimentação de monogástricos. *Cadernos técnicos de Veterinária e Zootecnia*, n. 31. p.53-71, 2000.

FERREIRA, A.J.P. Exclusão competitiva na avicultura. In: Simpósio sobre aditivos alternativos na nutrição animal, Campinas, 2000. p. 68-73.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Bacteriological analytical manual for foods. 6th ed. Washington, Department of Health Education and Welfare, , 420p., 1984.

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

FULLER, R. Probiotics an Overview. International Poultry Production, Oxford, p. 13-17, 1984.

FULLER, R. Probiotics in man and animals. A review. Journal of Applied Bacteriology, Oxford, v.66, p.365-378, 1989.

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

GAST, R.K. Paratyphoid Infections. In: CALNEK, B.W. Diseases of Poultry, 10 ed. Ames: Iowa University Press, 1997. p. 97-121.

GAST, R.K., HOLT,P.S. Persistence of *Salmonella enteritidis* from one day of age until maturity in experimentally infected layer chickens. Poultry Science, v. 77, n. 12, p. 1759-1762, 1998.

GAST, R.K., MITCHELL,B.W., HOLT,P.S. Airborne transmission of *Salmonella enteritidis* infection between groups of chicks in controlled-environment isolation cabinets. Avian Diseases, v. 42, n. 2, p. 315-320, 1998.

GEORGIA POULTRY LABORATORY. Monitoring and detection of *Salmonella* in poultry and poultry environments. Oakwood: Georgia Poultry Laboratory, 1997. 293p. [Workshop].

GIORGI, W. Animais domésticos como portadores de *Salmonellas*: significado epidemiológico e sua relação com a saúde pública. Higiene Alimentar, v. 1, n. 3-4, p. 177-193, 1982.

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

GONZÁLES, E., SALDANHA, E.S.P.B. Os primeiros dias de vida do frango e a produtividade futura. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA, 11., 2001, Goiânia. Anais... Goiânia: AZEG/ABZ, 2001. p.312-313.

GUERREIRO, M.G., OLIVEIRA, S.J., SARAIVA, D. Bacteriologia especial. Editora Sulina, 1984, p.4.

HAREIN, P.K., DE LAS CASAS, E., POMEROY, B.S., YORK, M.D. *Salmonella* spp. and serotypes of *Escherichia coli* isolated from the lesser mealworm collected in poultry brooder houses. Journal of Economic Entomology, 63(1): 80-2, 1970.

HAREIN, P.K., DE LAS CASAS, E., LARSEN, C.T., POMEROY, B.S. Microbial relationship between the lesser mealworm and its associated environment in a turkey brooder house. Environmental Entomology. 1(2): 189-193,1972.

HERNANDES, R. Estudo de frações nitrogenadas, glicídicas e de amônia liberada pela cama aviária submetidas a diferentes densidades populacionais. 98f. Trabalho (Graduação em Zootecnia) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista Jaboticabal, 1997.

HOBBS, B.C. *Clostridium perfringens* and *Bacillus cereus* infections In: RIEMANN, H. Food borne infections and intoxications. New York: Academic Press, p.131-73,1972.

HOFER, E., REIS, E. M. F. *Salmonella* serovars in food poisoning episodes recorded in Brazil from 1982 to 1991. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, v. 36, n. 1, p.7-9, 1994.

HOFER, E., SILVA FILHO, S.J., REIS, E.M.F. Prevalência de sorovares de *Salmonella* isolados de aves no Brasil. Pesq. Vet. Bras., v.2, p.55-62,1997.

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

HOLT, J.G., KRIEG, N.R., SNEATH, P.H.A., STALEY, J.T., WILLIAMS, S.T. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 9 ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994. p. 186-217.

HUGH-JONES, M.E., HARVEY, R.W.S., MCCOY, J.H.A. *Salmonella* California contamination of a turkey feed concentrate. Brit. Vet. J. 131 (6):673-680, 1975.

HUMPRHEY, T.J., MEAD, G.C., ROWE, B. Poultry meat as a source of human salmonellosis in England and Wales. Epidemiology and Infection, v. 100, n. 2, p. 175-184, 1988.

IAFIGLIOLA, M. C. et al. Cobre e antibiótico como promotores de crescimento em rações para frangos de corte. Revista Brasileira de Ciência Avícola, Campinas, v. 2, n. 3, Campinas.2000.

IVOS, J., ASAJ, J., MARJANOVIC, L.J., MADZIROV, Z. A contribution to the hygiene of deep litter in the chicken house. Poultry Science; 45(4): 676-83,1966.

IZAT, A.L., KOPEK, J.M., MCGINNIS, J.D. Incidence, number and serotypes of *Salmonella* on frozen broiler chickens at retail. Poultry Science, v. 70, n. 6, p. 1438-1440, 1991.

JACOBS-REITSMA, W.F., BOLDER, N.M., MULDER, R.W.A.W. Cecal carriage of *Campylobacter* and *Salmonella* in dutch broiler flocks at slaughter: a one-year study. *Poultry Science*, v. 73, n. 8, p. 1260-1266, 1994.

JORGE, M.A. Cama de frango de corte: como fazer dela sua aliada na prevenção de enfermidades. In: Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas, Campinas. Anais..., p.21, 1990.

LADINEEK, 1970, SAVAGE, 1997, Citado por BIOTECNAL, Pesquisa e Tecnologia em Nutrição. Boletim Informativo. O Fantástico Mundo dos Probióticos.

LAHELLEC, C., COLIN, P. Relationship between serotypes of *Salmonella* from hatcheries and rearing farms and those from processed poultry carcasses. *British Poultry Science*, v. 26, n. 2, p. 179-186, 1985.

LÍRIO, V.S., SILVA, E.A., STEFONI, S., CAMARGO, D., RECCO, E.A.P., MALUF, Y.T., MIYAZAWA, T.T., NEVES, D.V.D.A., OLIVEIRA, V.M.R. Frequência de 17 sorotipos de *Salmonella* isolados em alimentos. *Higiene Alimentar*, v. 12, n. 55, p. 36-42, 1998.

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

MARTIN, A.S., MCCANN, M.A. Microbiological survey of Georgia poultry litter. *Journal of Applied Poultry Research*, v. 7, n.1, p. 90-98, 1998.

MCILROY, S.G., McCRACKEN, R.M., NEILL, S.D., O'BRIEN, J.J. Control, prevention and eradication of *Salmonella enteritidis* infection in broiler and broiler breeder flocks. *Veterinary Record*, v. 125, n. 22, p. 545-548, 1989.

MERCHANT, I. A., PACKER, R. A. *Bacteriologia y Virologia Veterinarias*. Cap. 31, p.409-434, 1975.

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

MOORE Jr., P.A., DANIEL, T.C., EDWARDS, D.R. Reducing phosphorus runoff and inhibiting ammonia loss from poultry manure with aluminum sulfate. *Journal of Environmental Quality*, v.29, n.1, p.29-37, 2000.

MORGAN-JONES, S.C. The occurrence of *Salmonella* during the rearing of broiler birds. *Brit. Poultry Sci.* 21:463-470, 1980.

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

NAGAJARA, B.H. Paratyphoid infections. In: CALNEK, B.W. *Diseases of Poultry*, 9 ed. Ames: Iowa State University Press, 1991. p. 99-130.

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

NASCIMENTO, W.P. Salmoneloses Paratíficas: uma revisão e situação atual. In: *Simpósio Técnico de Produção de Ovos*, 6., São Paulo, 1996. Associação Paulista de Avicultura. 1996. p.93-105.

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

NUNES, I.A., MESQUITA, A.J., ANDRADE, M.A., OLIVEIRA, A.N. Ocorrência de *Salmonella* em carcaças e cortes de frangos comercializados em Goiânia-GO. Anais das Escolas de Agronomia e Veterinária, v. 25, n. 2, p. 1-5, 1995.

PAULUS, C., RUCKEBUSCH, J.P. Enterite necrótica (NE) Zootecnica Internacional. Bologna, p. 40-3, 1996.

PARISH, W.E. Necrotic enteritis in the fowl (*Gallus gallus*) 1.Histopathology of the disease and isolation of strain of *Clostridium welchi*. Journal Comparative Pathology , London, v. 71, p. 377-92, 1961.

PERESI, J.T.M., ALMEIDA, I.A.Z.C., LIMA, S.I., MARQUES, D.F., RODRIGUES, E.C.A., FERNANDES, S.A., GELLI, D.S., IRINO, K. Surtos de enfermidades transmitidas por alimentos causados por *Salmonella* Enteritidis. Revista de Saúde Pública, v. 32, n. 5, p. 477-483, 1998.

PINTO, P.S.A. Aspectos sanitários da salmonelose como uma zoonose. Higiene Alimentar, v. 14, n. 73, p. 39-43, 2000.

POPOFF, M.Y., BOCKMÜHL, J., BRENNER, F.W. Supplement 1997 (n° 41) to the Kauffmann-White scheme. Research in Microbiology, v. 149, n.8, p. 537-608, 1998.

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

READ, S.C, IRWIN, R.J., POPPE, C., HARRIS, J. A comparison of two methods for isolation of *Salmonella* from poultry litter samples. Poultry Science, v. 73, n. 10, p. 1617-1621, 1994.

REECE, F.N., BATES, B.J., LOTT, B.D. Ammonia control in broiler houses. Poultry Science, v.58, p.754-755, 1979.

REECE, F.N., LOTT, B.D., DEATON, J.W. Ammonia in the atmosphere during brooding affects performance of broiler chickens. Poultry Science; 59(3): 486-8, 1980.

ROCHA, P.T. Ocorrência de *Salmonella* spp. em granjas de integrações de frango de corte no estado de Goiás. 2001. f. Dissertação (mestrado em) – Universidade Federal de Goiás.

SAMPAIO, M. A. P. M., SCHOCKEN-ITURRINO, R. P., SAMPAIO, A. A. M., BERCHIELLI, S. C. P., BIONDI, A. Estudo da população microbiana e da liberação de amônia da cama de frangos tratadas com gesso agrícola. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.1, 1999.

SANTOS, D.M.S. Pesquisa de *Salmonella* em carcaças de frango congeladas utilizando diferentes meios de cultivo para o isolamento e avaliação de sensibilidade a antimicrobianos. Jaboticabal. 1998. 59 p. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias do Campus de Jaboticabal. Universidade Estadual Paulista.

SAS INSTITUTE. SAS (STAT), Users guide. Cary. 1998.

SASIPREEYAJAN, J., JERNGKLINCHAN, J., KOOWATANANUKUL, C., SAITANU, K. Prevalence of *Salmonellae* in broiler, layer and breeder flocks in Thailand. Tropical Animal Health and Production, v. 28, n. 2, p. 174-180, 1996.

SCHOCKEN-ITURRINO, R.P. et al. Isolation and characterization of pathogenic *Clostridium* in meats products. Ars Veterinaria, Jaboticabal, v.4 n.1 p. 91-98, 1988.

SHIVAPRASAD, H.L. Pullorum Disease and Fowl Typhoid . In: CALNEK, B.W. Diseases of Poultry, 10 ed. Ames: Iowa University Press, 1997. p. 82-96.

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

SILVA, E.N., DUARTE, A. *Salmonella enteritidis* em aves: Retrospectiva no Brasil. Revista Brasileira De Ciência Avícola , v.4, n.2, p. 85-100, 2002.

SMITH, L.D.S. Clostridial Infecções In: HITCHNER, S.B.; Isolation and Identification of Avian Pathogens. 2nd ed. Texas: American Association of avian Pathologists, College Station, 1988. p .33-35.

SOJKA, W.J., FIELD, H.I. Salmonellosis in England and Wales 1958-67. Veterinary Bulletin, v. 40, n. 3, p. 515-531, 1970.

SORBARA, J.O.B., RIZZO, M.L., LAURENTIZ, A.C., SCHOCKEN-ITURRINO, R.P., BERCHIELLI, T.T., MORAES, V.M.B.; Avaliação da Polpa de Citros Peletizada como Material para Cama de Frangos de Corte. Rev. Bras. Cienc. Avic., v.2, n.3, Campinas set. 2000.

SOUZA, L.C., LARIA, S.T., PAIN, G.V. *Salmonelas e coliformes fecais* em águas de bebida para animais. Rev. Saúde Pública, v.26 n.5 São Paulo, 1992.

SPECK, M.L. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. Washington: APHA, p. 701, 1976.

SUZUKI, S. Pathogenicity of *Salmonella enteritidis* in poultry. International Journal of Food Microbiology, v. 21, n. 1-2, p. 89-105, 1994.

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

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

TERZICH, M.A. A amônia dos galpões avícolas e o pH da cama. In: Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícola; Campinas, São Paulo. Brasil. p.141-6, 1997.

THIAGARAJAN, D., SAEED, A.M., ASEM, E.K. Mechanism of transovarian transmission of *Salmonella enteritidis* in laying hens. *Poultry Science*, v. 73, n.1, p. 89-98, 1994.

TORTORA, G. J., FUNKE, B.R., CASE, C.L. *Microbiology an Introduction* 5 ed. New York: The Benjamin Cummings. 801 p., 1995.

TROVÓ, K.V.P. Presença de esporos de *Clostridium perfringens* em camas novas e reutilizadas na criação de perus. 2004. f. 31. Trabalho de graduação (Zootecnia) – Faculdades de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

ZANCAN, F.T. Pesquisa de *Salmonella* em caixas de transporte de pintos de um dia de idade. 1998. 46p. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Jaboticabal, SP.

WALDROUP, A.L., SKINNER, J.T., HIERHOLZER, R.E., KOPEK, J.M., WALDROUP, P.W. Effects of bird density on *Salmonella* contamination of prechill carcasses. *Poultry Science*, v. 71, n. 5, p. 844-849, 1992.

WALL, P.G., WARD, L.R. Epidemiology of *Salmonella* serovar Enteritidis phage type 4 in England and Wales. In: SAEED,A.M., GAST,R.K., POTTER,M.E., WALL,P.G. *Salmonella enterica* serovar Enteritidis in humans and animals. Ames: Iowa State University Press, 1999. p. 19-25.