

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E DO DESPORTO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS E EPIDEMIOLÓGICOS  
DOS SURTOS CAUSADOS POR *Salmonella sp* EM  
CRIAÇÕES NÃO INDUSTRIAIS DE *Gallus gallus*  
*domesticus* NO ESTADO DO PARANÁ.

SONIA MARIA BIESDORF

Tese apresentada à Universidade Federal  
do Paraná, para a obtenção do Título de  
Mestre em Ciências Veterinárias.

CURITIBA

1994

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E DO DESPORTO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**SONIA MARIA BIESDORF**

**"Aspectos microbiológicos e epidemiológicos dos surtos causados por *Salmonella* sp em criações não industriais de *Gallus gallus domesticus* no Estado do Paraná"**

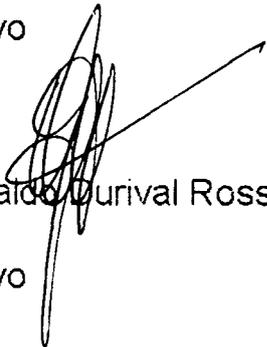
Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão Examinadora abaixo assinada:



Prof. Dr. Yasuyoshi Hayashi  
Presidente/Orientador  
UFPR



Prof. Dr. Sebastião Gonçalves  
Franco  
Membro Efetivo  
UFPR



Prof. Dr. Oswaldo Durival Rossi  
Junior  
Membro Efetivo  
UNESP

Curitiba, 29 de junho de 1994.

**Não consentem os deuses mais que a vida.**

**Fernando Pessoa**

**Aos primeiros, dedicados e incansáveis  
mestres;  
meu saudoso pai  
EDMUNDO CARLOS  
e minha querida mãe  
ELZA.**

**Ao meu marido JÚLIO CÉSAR,  
com carinho.**

**Ao co-orientador e amigo  
JOSÉ FRANCISCO GHIGNATTI WARTH,  
pela incentivadora orientação.**

## **AGRADECIMENTOS**

À Secretaria da Agricultura e Abastecimento do Estado do Paraná-SEAB, pela liberação concedida.

Ao Centro de Diagnóstico Marcos Enrietti-CDME e ao coordenador Dalmir México Martins, por possibilitar todas as condições para a realização deste trabalho.

Ao ilustre Prof. Dr. YASUYOSHI HAYASHI, orientador do presente trabalho.

Ao admirável mestre Prof. Dr. METRY BACILA, Coordenador do Curso de Pós Graduação em Ciências Veterinárias, 1986-1992.

Ao Prof. Dr. ANTÔNIO FELIPE WOUK, Coordenador do Curso de Pós Graduação em Ciências Veterinárias.

À Prof. Dra. MARIA JOSÉ DUTRA, pelo empréstimo de literatura e slides.

À MARIA LUIZA LEONARDI GONÇALVES e em especial a MARIELA MORAES MARTINS GOULARTE e CÉLIO PRINCIVAL, colegas do Laboratório de Bacteriologia, pelo espírito de colaboração demonstrado, enquanto estudava.

Aos colegas de campo, pelo envio das amostras, sem as quais não seria possível realizar este trabalho.

À ROSÁRIA REGINA RICHARTZ, amiga de todas as horas.

À minha irmã SOLANGE INÊS BIESDORF, pelo carinho e apoio nos momentos precisos.

Aos Professores e colegas do Curso de Pós Graduação, pela amizade e incentivo, dentre eles os amigos ELZA MARIA GALVÃO CIFFONI e JOSÉ RICARDO PACHALY.

Ao Dr. CLAUDE SOLARI do Instituto Oswaldo Cruz-RJ, pela atenção em me receber e orientar na identificação bioquímica e sorológica das amostras estudadas.

Ao Prof. Dr. KATSUMASA HOSHINO da Universidade Estadual "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu-SP, pela gentileza em enviar-me material bibliográfico.

Aos amigos SÍLVIA MARIA DORNELES RODRIGUES e FLÁVIO MUGNOL CARNEIRO, pelo apoio durante minha permanência no Rio de Janeiro.

À bibliotecária TEREZA CRISTINA SOUTTO MAIOR da Universidade de São Paulo, pela valiosa ajuda na pesquisa bibliográfica.

Às bibliotecárias EVELYN DA SILVA e DOROTI MARIA DE LURDES ANDRADE, pelo auxílio na aquisição dos trabalhos científicos solicitados e na ordenação bibliográfica.

À TÂNIA MARA SCHRANK e DELEUSE CHEROBIM, funcionárias do Curso de Pós Graduação em Ciências Veterinárias, pela gentileza constante.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo auxílio financeiro.

E, finalmente, a todos aqueles que, de uma forma ou de outra, contribuíram para a realização deste trabalho.

## CONTEÚDO

<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	<b>IX</b>
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	<b>XI</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>3</b>
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>29</b>
<b>3.1. MATERIAL ANALISADO</b> .....	<b>29</b>
3.1.1. Origem das Amostras .....	29
3.1.2. Envio das Amostras .....	29
<b>3.2. MATERIAL DE LABORATÓRIO</b> .....	<b>30</b>
3.2.1. Meios de Cultura, Reagentes e Soluções .....	30
3.2.1.1. Base de Ágar Sangue.....	30
3.2.1.2. Ágar MacConkey .....	30
3.2.1.3. Ágar Salmonella-Shigella .....	31
3.2.1.4. Caldo Selenito.....	32
3.2.1.5. Ágar Três Açúcares e Ferro.....	32
3.2.1.6. Caldo Uréia de Christensen .....	33
3.2.1.7. Meio de SIM (H <sub>2</sub> S, Indol, Motilidade) .....	34
3.2.1.8. Meio de MR-VP .....	35
3.2.1.9. Ágar Citrato de Simmons.....	35
3.2.1.10. Meio de Cianeto de Potássio (KCN), segundo MOLLER.....	36
3.2.1.11. Caldo Malonato .....	37
3.2.1.12. Ágar Mueller-Hinton .....	37
3.2.1.13. Meio de Lignières segundo BIER (1978) .....	38

3.2.1.14. Meio de Lisina Descarboxilase .....	38
3.2.1.15. Caldo Base de Ensaio de Ornitina Descarboxilase .....	39
3.2.1.16. Caldo Base de Ensaio de Arginina Dehidrolase .....	40
3.2.1.17. Ágar Tartarato de Jordan.....	41
3.2.1.18. Meio para Fermentação de Carboidratos - Dulcitol.....	41
3.2.1.19. Meio para Fermentação de Carboidratos - Glicose .....	42
3.2.1.20. Caldo de Infusão Cérebro e Coração .....	43
3.2.1.21. Indicador de Andrade.....	43
3.2.1.22. Reativo de Ehrlich para Prova do Indol segundo KONEMAN <i>et. al.</i> (1983).....	44
3.2.1.23. Anti-soro Polivalente "Salmonella O antiserum. Poly A" - DIFCO.	
Anti-soro específico "Antiserum Group D <sub>1</sub> " - DIFCO .....	44
3.2.1.24. Soluções .....	44
3.3. METODOLOGIA UTILIZADA.....	44
3.3.1. Amostras Analisadas .....	44
3.3.2. Plaqueamento.....	45
3.3.3. Identificação Bioquímica Presuntiva .....	45
3.3.4. Identificação Bioquímica e Sorológica .....	46
3.3.5. Diferenciação dos Sorovares <i>S.pullorum</i> e <i>S.gallinarum</i> .....	50
3.3.6. Sensibilidade e Resistência aos Antibióticos e Quimioterápicos .....	53
3.3.7. Manutenção das Amostras .....	54
3.3.8. Confirmação Bioquímica e Caracterização Sorológica Definitiva das Amostras ...	54
3.3.9. Frequência dos Surtos Aviários Causados por <i>Salmonella sp</i> nos Meses do	
Ano .....	54
3.3.10. Prováveis Morbidades, Mortalidades e Letalidades Aviárias Atribuídas a	
Infecção pelos Sorovares <i>S.pullorum</i> , <i>S.gallinarum</i> e <i>S.enteritidis</i> .....	55
4. RESULTADOS .....	56

4.1. PARTICIPAÇÃO DE <i>Salmonella sp</i> NOS SURTOS OCORRIDOS NOS ANOS DE 1987 A 1991 .....	56
4.2. IDENTIFICAÇÃO DOS SOROVARES DE <i>Salmonella sp</i> ENVOLVIDOS NOS SURTOS.....	57
4.3. PROVAS DE SENSIBILIDADE A ANTIBIÓTICOS E QUIMIOTERÁPICOS.....	58
4.4. ISOLAMENTO DE <i>Salmonella sp</i> E SUA OCORRÊNCIA NOS MESES DO ANO.....	59
4.5. MORBIDADES, MORTALIDADES E LETALIDADES AVIÁRIAS ATRIBUÍDAS À INFECÇÃO CAUSADA PELA <i>S.pullorum</i> , <i>S.gallinarum</i> E <i>S.enteritidis</i> EM CRIAÇÕES CASEIRAS NO ESTADO DO PARANÁ, DURANTE OS ANOS DE 1987 A 1991 .....	59
<b>5. DISCUSSÃO .....</b>	<b>79</b>
5.1. FREQUÊNCIA DOS SOROVARES IDENTIFICADOS.....	79
5.2. SENSIBILIDADE E RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS.....	84
5.3. <i>Salmonella sp</i> E SEU PAPEL NA SAÚDE PÚBLICA.....	88
5.4. TAXAS DE MORBIDADE, MORTALIDADE E LETALIDADE ATRIBUÍDAS A <i>S.pullorum</i> , <i>S.gallinarum</i> E <i>S.enteritidis</i> .....	90
<b>6. CONCLUSÕES .....</b>	<b>94</b>
<b>7. RESUMO.....</b>	<b>95</b>
<b>8. SUMMARY .....</b>	<b>96</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>97</b>

## LISTA DE TABELAS

1. TOTAL DE AMOSTRAS, NÚMERO E PERCENTAGEM DOS SURTOS POSITIVOS PARA <i>Salmonella sp</i> .....	61
2. PRINCIPAIS MICRORGANISMOS BACTERIANOS ISOLADOS DAS AVES (CARCAÇAS, ÓRGÃOS), PARTICIPANDO OU NÃO DOS SURTOS .....	62
3. RESULTADO DAS TIPIFICAÇÕES DAS 15 CEPAS DE <i>Salmonella sp</i> ISOLADAS DURANTE O ANO DE 1987 .....	63
4. RESULTADO DAS TIPIFICAÇÕES DAS 11 CEPAS DE <i>Salmonella sp</i> ISOLADAS DURANTE O ANO DE 1988 .....	64
5. RESULTADO DAS TIPIFICAÇÕES DAS 09 CEPAS DE <i>Salmonella sp</i> ISOLADAS DURANTE O ANO DE 1989 .....	66
6. RESULTADO DAS TIPIFICAÇÕES DAS 06 CEPAS DE <i>Salmonella sp</i> ISOLADAS DURANTE O ANO DE 1990 .....	67
7. RESULTADO DAS TIPIFICAÇÕES DAS 06 CEPAS DE <i>Salmonella sp</i> ISOLADAS DURANTE O ANO DE 1991 .....	69
8. CARACTERÍSTICAS DE SENSIBILIDADE E RESISTÊNCIA "IN VITRO" DOS 39 SOROVARES DE <i>Salmonella gallinarum</i> .....	70
9. CARACTERÍSTICAS DE SENSIBILIDADE E RESISTÊNCIA "IN VITRO" DOS 06 SOROVARES DE <i>Salmonella pullorum</i> .....	71
10. CARACTERÍSTICAS DE SENSIBILIDADE E RESISTÊNCIA "IN VITRO" DOS 02 SOROVARES DE <i>Salmonella enteritidis</i> .....	71
11. DISTRIBUIÇÃO MENSAL DOS SURTOS CAUSADOS POR <i>Salmonella</i> DURANTE O PERÍODO DE 1987 A 1991 .....	72

12. RELAÇÃO DOS 33 MUNICÍPIOS DO ESTADO DO PARANÁ QUE APRESENTARAM ISOLAMENTOS POSITIVOS PARA <i>Salmonella sp</i> E O NÚMERO DE SURTOS POR MUNICÍPIOS NOS ANOS DE 1987 A 1991 .....	73
13. PROVÁVEIS PERCENTUAIS DE MORBIDADE, MORTALIDADE E LETALIDADE ATRIBUÍDOS À INFECÇÃO POR <i>S.pullorum</i> .....	75
14. PROVÁVEIS PERCENTUAIS DE MORBIDADE, MORTALIDADE E LETALIDADE ATRIBUÍDOS À INFECÇÃO POR <i>S.gallinarum</i> .....	76
15. PROVÁVEIS PERCENTUAIS DE MORBIDADE, MORTALIDADE E LETALIDADE ATRIBUÍDOS À INFECÇÃO POR <i>S.enteritidis</i> .....	77

## LISTA DE FIGURAS

1. PERCENTUAL ACUMULADO DOS SURTOS CAUSADOS POR <i>Salmonella sp</i> NO PERÍODO DE 1987 A 1991.....	61
2. PERCENTUAL DOS SURTOS CAUSADOS POR <i>Salmonella sp</i> NO ANO DE 1987 .....	62
3. PERCENTUAL DOS SOROVARES DE <i>Salmonella sp</i> ISOLADOS DOS SURTOS OCORRIDOS DURANTE O ANO DE 1987 .....	63
4. PERCENTUAL DOS SURTOS CAUSADOS POR <i>Salmonella sp</i> NO ANO DE 1988 .....	64
5. PERCENTUAL DOS SOROVARES DE <i>Salmonella sp</i> ISOLADOS DOS SURTOS OCORRIDOS DURANTE O ANO DE 1988 .....	65
6. PERCENTUAL DOS SURTOS CAUSADOS POR <i>Salmonella sp</i> NO ANO DE 1989 .....	65
7. PERCENTUAL DOS SOROVARES DE <i>Salmonella sp</i> ISOLADOS DOS SURTOS OCORRIDOS DURANTE O ANO DE 1989 .....	66
8. PERCENTUAL DOS SURTOS CAUSADOS POR <i>Salmonella sp</i> NO ANO DE 1990 .....	67
9. PERCENTUAL DOS SOROVARES DE <i>Salmonella sp</i> ISOLADOS DOS SURTOS OCORRIDOS DURANTE O ANO DE 1990 .....	68
10. PERCENTUAL DOS SURTOS CAUSADOS POR <i>Salmonella sp</i> NO ANO DE 1991.....	68
11. PERCENTUAL DOS SOROVARES DE <i>Salmonella sp</i> ISOLADOS DOS SURTOS OCORRIDOS DURANTE O ANO DE 1991.....	69

12. PERCENTUAIS ACUMULADOS DOS SOROVARES DE <i>Salmonella sp</i> ISOLADOS DOS SURTOS DURANTE 1987 A 1991 .....	70
13. DISTRIBUIÇÃO DOS SURTOS DE SALMONELOSE AVIÁRIA EM RELAÇÃO ÀS ESTAÇÕES DO ANO .....	72
14. LOCALIZAÇÃO GEOGRÁFICA DOS 33 MUNICÍPIOS DO ESTADO DO PARANÁ QUE APRESENTARAM SURTOS POSITIVOS PARA <i>Salmonella sp</i> ....	74
15. PERCENTUAIS DE MORBIDADE E MORTALIDADE ATRIBUÍDOS A <i>S.pullorum</i> NO PERÍODO DE 1987-1991 .....	75
16. PERCENTUAIS DE MORBIDADE E MORTALIDADE ATRIBUÍDOS A <i>S.gallinarum</i> NO PERÍODO DE 1987-1991 .....	77
17. PERCENTUAIS DE MORBIDADE E MORTALIDADE ATRIBUÍDOS A <i>S.enteritidis</i> NO PERÍODO DE 1987-1991 .....	78
18. TAXAS DE LETALIDADE ATRIBUÍDAS A <i>S.gallinarum</i> , <i>S.pullorum</i> E <i>S.enteritidis</i> .....	78

## 1. INTRODUÇÃO

Salmonelose é o termo empregado a um grande grupo de doenças agudas ou crônicas causadas por bactérias do gênero *Salmonella*, pertencentes à família *Enterobacteriaceae* (WILLIAMS, 1984). O número de sorovares deste gênero vem aumentando consideravelmente, atingindo cerca de 2000, segundo seus diferentes antígenos somáticos e flagelares. Em 1940, somente uma centena era conhecida (LE MINOR, 1982).

A salmonelose apresenta características cosmopolitas, sendo considerada por ACHA & SZYFRES (1986) como a zoonose mais difundida no mundo. É uma das poucas doenças que afetam um amplo espectro de animais, incluindo o homem e as aves (WALTON, 1983).

As aves domésticas são consideradas os maiores reservatórios de *Salmonella* sp existentes na natureza, sendo também reconhecidas como uma das principais fontes de infecção deste microrganismo ao homem (PELLUFO, 1976; BHATIA *et. al.*, 1979; WILLIAMS, 1984; ACHA & SZYFRES, 1986).

Nos Estados Unidos, 30% das intoxicações alimentares são causadas por estes microrganismos e na Inglaterra, a principal fonte de infecção é a carne das aves domésticas, responsável por 50% das epidemias (DEMONT, 1984).

No Brasil, as bactérias deste gênero são responsáveis por até 15% das diarreias em crianças (TRABULSI, 1972).

Existem sorovares que são espécie-específicos, cujos efeitos patogênicos raramente se manifestam em espécies outras que não aquelas para as quais existe tropismo. Com repercussões sobre a espécie humana, citam-se os sorovares *S.typhi*,

*S.paratyphi*, A, B e C (LE MINOR, 1982). Também os animais apresentam sorovares estritamente adaptados como a *S.pullorum* e *S.gallinarum*, nas aves; *S.cholerae-suis*, em suínos; *S.abortus-ovis*, nos ovinos; *S.abortus-equi*, nos eqüinos e *S.dublin* sobre os bovinos (GILLESPIE & TIMONEY, 1981).

As infecções causadas por bactérias do gênero *Salmonella* têm merecido a atenção de numerosos pesquisadores, pois são conhecidos os grandes prejuízos econômicos que podem causar, principalmente a *S.pullorum* e *S.gallinarum*, à avicultura (SCHAR, 1978; SNOEYENBOS, 1978; POMEROY, 1978; WILLIAMS, 1978). Criações domésticas de aves de precário nível tecnológico representam risco de disseminação de doenças para criações industriais (SNOEYENBOS, 1984).

Levantamento sorológico realizado em 5.570 amostras de soros de aves caseiras, revelou 223 (20,6%) reagentes positivos, constituindo-se no único dado disponível sobre a doença neste Estado (dados SEAB-Epidemiologia).

Visando contribuir para um melhor esclarecimento sobre a participação deste enteropatógeno às criações de aves não industriais (criações caseiras) e tendo em vista a inexistência de informações envolvendo este segmento da pecuária paranaense, idealizou-se o presente trabalho, que tem como objetivos principais:

1. Verificar a participação de *Salmonella sp* na etiologia da mortalidade de aves domésticas (*Gallus gallus domesticus*) no Estado do Paraná.
2. Identificar os principais sorovares de *Salmonella sp* envolvidos nas enfermidades aviárias no Estado do Paraná.
3. Verificar a sensibilidade apresentada pelos sorovares de *Salmonella sp*, frente a agentes antimicrobianos.
4. Verificar os meses do ano de maior ocorrência dos surtos de *Salmonella sp*.
5. Analisar as prováveis taxas de morbidade, mortalidade e letalidade ocorridas nos surtos.
6. Rever a literatura especializada no assunto.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

O gênero *Salmonella* foi proposto por LIGNIÈRES em 1900 em homenagem a SALMON, quem caracterizou pela primeira vez o agente do paratifo suíno, denominando-o como "le microbe du hogcholerae de Salmon", hoje caracterizada como *S.cholerae-suis* (JOHN-BROOKS, 1934). Ainda segundo o autor, anteriormente a esta denominação, os membros deste grupo de microrganismos eram incluídos nos principais esquemas de classificação como *Bacterium* por COHN em 1875; FLÜGGE em 1886; MIGULA em 1894 e LEHMANN & NEUMANN em 1896 ou como *Bacillus* por TREVISAN em 1879 e MIGULA em 1890.

Em 1934, o subcomitê para *Salmonella* aceitou o nome genérico *Salmonella Lignières* com a definição de BRUCE-WHITE em 1929, nos seguintes termos:

Um grande gênero relacionado sorologicamente, bacilo gram negativo, não esporulado, com dimensões de 0,4 x 0,6 x 1-3 microns, formando ocasionalmente cadeias curtas, mostrando com certas exceções, motilidade devido aos flagelos peritríquios., com propriedades de coloração e morfologia semelhantes ao *B.typhosus*. Não fermentam a lactose e sacarose, não coagulam leite, não liquefazem a gelatina, nem produzem Indol, atacam regularmente a glicose, mas às vezes com ou sem produção de gás. Todas as espécies conhecidas são patogênicas ao homem, animais ou a ambos. (JOHN-BROOKS, 1934)

Segundo a última edição do Manual de Bergey, editada em 1984, os organismos do gênero *Salmonella* apresentam-se metabolicamente como bacilos aeróbios e anaeróbios facultativos, gram negativos, semelhantes as demais enterobactérias, medindo 0,7-1,5 x 2,0-5,0 microns, não esporulados, geralmente móveis devido aos flagelos peritríquios, com exceção dos sorovares *S.gallinarum* e *S.pullorum* que são imóveis.

Quanto à cultura em meios sólidos, os organismos deste gênero crescem naqueles considerados de moderada a alta seletividade como agar McConkey e agar *Salmonella-Shigella*, respectivamente. Nestes, após 24-48 horas de incubação a 37°C, desenvolvem-se colônias incolores com 2-4 mm de diâmetro. Estas apresentam-se circulares, pouco convexas, com superfície lisa e bordos inteiros, ou ainda com superfície menos regular e bordos denteados (WILSON & MILES, 1975; LE MINOR, 1984).

Em meios líquidos, a cultura apresenta bom desenvolvimento após 18-24 horas de incubação a 37°C. Destacam-se, entre os vários meios de enriquecimento existentes, os caldos selenito e tetracionato, recomendado para todos os sorovares (LE MINOR, 1984).

Conforme a 9ª edição do Manual de Bergey, o gênero *Salmonella* pertence à família *Enterobacteriaceae* e compõe-se de cinco subgêneros distintos (I, II, III, IV e V), com características bioquímicas próprias, que os distinguem entre si, e estão assim estabelecidos:

**Características diferenciais de "subgênero" do gênero *Salmonella***

	"Subgênero"				
	I	II	III	IV	V
β-galactosidase (ONPG)	-	- ou x	+	-	+
Produção de ácido a partir de:					
Lactose	-	-	+ ou x	-	-
Dulcitol	+	+	-	-	+
Mucato	+	+	d	-	+
Galacturonato	-	+	d	+	+
Utilização de:					
Malonato	-	+	+	-	-
α-Tartarato	+	- ou x	- ou x	- ou x	-
Hidrólise gelatina (método filme)	-	+	+	+	-
Crescimento em presença KCN	-	-	-	+	+
Habitat da maioria cepas:					
Animais sangue-quente	+	-	-	-	-
Animais sangue-frio e meio ambiente	-	+	+	+	+

Símbolos: +, positivo para 90% ou maioria das cepas em 1-2 dias; d, positivo para 11-89% das cepas em 1-2 dias; -, positivo para 0-10% das cepas em 1-2 dias; x, positivo tardio e irregular (3-7 dias). A temperatura para todas as reações ocorre em 37°C.

Os sorovares do subgênero I são os mais freqüentemente isolados dos animais em geral (animais de sangue quente), sendo a *S.gallinarum* e *S.pullorum* as mais adaptadas entre as aves domésticas (GILLESPIE & TIMONEY, 1981). Bioquimicamente estes dois sorovares apresentam algumas diferenças entre si, embora ambos pertençam ao mesmo subgênero (ZANCAN & BACILA, 1966; LE MINOR, 1984).

Características bioquímicas segundo LE MINOR (1984).

Características	(1)	(2)	(3)	Características	(1)	(2)	(3)
Produção de indol	-	-	-	D-Glicose, produção gás	+	-	(+)
Vermelho de metila	+	+	+	Lactose	-	-	-
Voges-Proskauer	-	-	-	Sacarose	-	-	-
Citrato de Simmons	+	-	-	D-Manitol	+	+	+
Gás sulfídrico no TSI	+	+	+	Dulcitol	+	+	-
Uréia de Christensen	-	-	-	Salicina	-	-	-
Fenilalanina desaminase	-	-	-	D-Adonitol	-	-	-
Lisina descarboxilase	+	+	+	Myo-Inositol	d	-	-
Arginina desidrolase	d	-	d	D-Sorbitol	+	-	(-)
Omitina descarboxilase	+	-	+	L-Arabinose	+	(+)	+
Motilidade	+	-	-	Rafinose	-	-	-
Liquefação da gelatina a 22° C	-	-	-	L-Ramnose	+	-	+
Crescimento em KCN	-	-	-	Maltose	+	+	-
Utilização do Malonato	-	-	-	D-Xylose	+	d	(+)
D-Glicose, produção ácido	+	+	+	Trealose	+	d	(+)
Características	(1)	(2)	(3)	Características	(1)	(2)	(3)
Celobiose	-	-	-	Desoxiribonuclease a 25°C	-	-	-
Methyl-D-Glicoside	-	-	-	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> →NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	+	+	+
Hidrolise da esculina	-	-	-	Oxidase de Kovacs	-	-	-
Melibiose	+	-	-	ONPG (β-galactosidase)	-	-	-
D-Arabitól	-	-	-	Pigmento amarelo	-	-	-
Mucato	+	d	-	D-Manose	+	+	+
Lipase	-	-	-				

(1) - *Salmonella* I

(2) - *S.gallinarum*

(3) - *S.pullorum*

Para a identificação presuntiva das colônias suspeitas de *Salmonella* sp são utilizados os meios básicos Triple Sugar Iron (TSI) ou Lysyne Iron Ágar (LIA) incubados a 38°C por 18 a 24 horas, assim como o meio de uréia incubado por 2 a 4 horas a 37°C. O desenvolvimento de reações apresentadas pelos meios acima citados, tais como: ápice alcalino (vermelho), base ácida (amarela), com ou sem gás, presença ou ausência de gás sulfídrico (enegrecimento) e reação negativa da prova de uréia, indicam presuntivamente

tratar-se de microrganismos deste gênero (EDWARDS & EWING, 1972; MARTIN & WASHINGTON II, 1980; MALLINSON & SNOEYENBOS, 1989). A seguir é realizada a caracterização bioquímica através de provas complementares, relacionadas na tabela abaixo, segundo EDWARDS & EWING (1972).

#### Reações Bioquímicas dos Membros do Gênero *Salmonella*

Teste ou substrato	Sinal	%+	(%+)	Teste ou substrato	Sinal	%+	(%+)
Gás sulfídrico (TSI)	+	91.6	(0.8)	Rafinose	-	3	(0.3)
Uréia	-	0		Ramnose	+	90.3	(1.1)
Índol	-	1.1		Malonato	-	0.5	
Vermelho de metila (37°C)	+	100		Mucato	<i>d</i>	73.6	(1.3)
Voges-Proskauer (37°C)	-	0		Tartarato Jordan	+ ou (+)	89.3	(1.2)
Citrato (Simmons)	<i>d</i>	80.1	(7)	Glicerol Stern	<i>d</i>	81	(0.5)
KCN	-	0.3	(0.3)	Acetato de Sódio	<i>d</i>	80	(2.7)
Motilidade	+	94.6		Maltose	+	96	(1.3)
Gelatina (22° C)	-	(1.1)		Xylose	+	94	(0.6)
Lisina descarboxilase	+	94.6		Trealose	+	93.5	(1.1)
Arginina dehidrolase	+ ou (+)	58.5	34	Cellobiose	<i>d</i>	6.5	(76.4)
Ornitina descarboxilase	+	92.7		Glicerol	<i>d</i>	4.5	(17)
Fenilalanina desaminase	-	0		Nitrato a nitrito	+	100	
Glicose ácido	+	100		Oxidase	-	0	
gás	+	91.9		HCA	-	0	
Lactose	-	0.8		Cetrimide	-	1.4	(1.4)
Sacarose	-	0.5		Ácidos orgânicos			
Manitol	+	99.7		Citrato	+ ou (+)	87	(4.6)
Dulcitol	<i>d</i>	86.5	(2.7)	D-Tartarato	+ ou (+)	84.3	(5.7)
Salicina	-		(0.8)	H-tartarato	<i>d</i>	3.8	(51.2)
Adonitol	-	0		L-tartarato	<i>d</i>	9.3	(66.7)
Inositol	<i>d</i>	34.5	(0.8)				
Sorbitol	+	94.1	(4)				
Arabinose	+ ou (+)	89.2	(0.8)				

Números entre parênteses indicam percentagens de reações tardias (3 ou mais dias).

+ Positivo dentro de um ou dois dias de incubação.

(+) Reação positiva após 3 ou mais dias.

- Sem reação.

+ ou - Maioria dos cepas positivas, algumas culturas negativas

- ou + Maioria das culturas negativas, algumas cepas positivas.

(+) ou + Maioria das reações demoradas, algumas ocorrem dentro de 1 ou 2 dias.

*d* Reações diferentes: +, (+), -.

Quanto à classificação sorológica, o esquema de KAUFFMANN-WHITE baseia-se na estrutura antigênica dos sorovares, que é composta pelos antígenos Somático (O), Flagelar (H) e Capsular (Vi).

Ilustração da Classificação Sorológica do Esquema de KAUFFMANN-WHITE.

GRUPO	SOROVAR	ANTÍGENO	ANTÍGENO H	
			Fase 1	Fase 2
A	<i>S. paratyphi A</i>	<u>1</u> , 2, 12	a	-
B	<i>S. abortusequi</i>	4, 12	-	e, n, x
	<i>S. paratyphi B</i>	<u>1</u> , 4, <u>[5]</u> , 12	b	1, 2
	<i>S. limete</i>	<u>1</u> , 4, 12, <u>27</u>	b	1, 5
	<i>S. abony</i>	<u>1</u> , 4, <u>[5]</u> , 12	b	e, n, x
	<i>S. abortusbovis</i>	<u>1</u> , 4, 12, <u>27</u>	b	e, n, x
	<i>S. schleissheim</i>	4, 12, <u>27</u>	b, z <sub>12</sub>	-
	<i>S. wien</i>	<u>1</u> , 4, 12, <u>[27]</u>	b	l, w
	<i>S. abortusovis</i>	4, 12	c	1, 6
	<i>S. stanley</i>	<u>1</u> , 4, <u>[5]</u> , 12, <u>27</u>	d	1, 2
	<i>S. chester</i>	4, <u>[5]</u> , 12	e, h	e, n, x
	<i>S. derby</i>	<u>1</u> , 4, <u>[5]</u> , 12	(f), g	-
	<i>S. typhimurium</i>	<u>1</u> , 4, <u>[5]</u> , 12	i	1, 2
	<i>S. agama</i>	4, 12	j	1, 6
	<i>S. gloucester</i>	<u>1</u> , 4, 12, <u>[27]</u>	i	1, w
	<i>S. bredeney</i>	<u>1</u> , 4, 12, <u>27</u>	l, v	1, 7
	<i>S. heidelberg</i>	<u>1</u> , 4, <u>[5]</u> , 12	r	1, 2
C1	<i>S. paratyphi C</i>	<u>6</u> , 7, <u>[Vi]</u>	e	1, 5
	<i>S. choleraesuis</i>	<u>6</u> , 7	e	1, 5
	<i>S. montevideo</i>	<u>6</u> , 7	g, m, s	-
	<i>S. oranienburg</i>	<u>6</u> , 7	m, t	-
	<i>S. thompson</i>	<u>6</u> , 7	k	1, 5
	<i>S. bareilly</i>	<u>6</u> , 7	y	1, 5
C2	<i>S. tennessee</i>	<u>6</u> , 7	z <sub>29</sub>	-
	<i>S. manhattan</i>	<u>6</u> , 8	d	1, 5
	<i>S. newport</i>	<u>6</u> , 8	e, h	1, 2
	<i>S. bovismorbificans</i>	<u>6</u> , 8	r	1, 5
	<i>S. kentucky</i>	8, 20	i	z <sub>6</sub>
D	<i>S. sendai</i>	<u>1</u> , 9, 12	a	1, 5
	<i>S. typhi</i>	<u>9</u> , 12, Vi	d	-
	<i>S. enteritidis</i>	<u>1</u> , 9, 12	g, m	-
	<i>S. dublin</i>	<u>1</u> , 9, 12, <u>[Vi]</u>	g, p	-
	<i>S. panama</i>	<u>1</u> , 9, 12	l, v	1, 5
	<i>S. gallinarum</i>	<u>1</u> , 9, 12	-	-
E1	<i>S. anatum</i>	3, 10	e, h	1, 6
	<i>S. meleagridis</i>	3, 10	e, h	1, w
	<i>S. london</i>	3, 10	l, v	1, 6
E2	<i>S. newington</i>	3, <u>15</u>	e, h	1, 6
E3	<i>S. minneapolis</i>	(3), <u>15</u> , 34	e, h	1, 6
E4	<i>S. senftenberg</i>	1, 3, 19	g, s, t	-

Números sublinhados representam fatores antigênicos fago-determinados. Números em colchetes representam antígenos presentes somente em algumas cepas do sorovar.

Os antígenos somáticos (O) são de composição lipopolissacarídica, termoestáveis, formando cadeias polissacarídicas que proporcionam especificidade aos numerosos tipos de antígenos somáticos (O) e são representados por algarismos arábicos (1, 2, 3, 4, ..., etc.). Os antígenos flagelares (H), por sua vez, são de constituição protéica, termolábeis, apresentando-se sob duas formas distintas, denominadas de Fase 1 e Fase 2, identificáveis através de letras minúsculas do alfabeto (a, b, c, d, ..., etc.) e algarismos arábicos (1, 2, 3, 4, ..., etc.), respectivamente. Estes antígenos de fase são determinados geneticamente por uma série de genes do locus (H1) e (H2), respectivamente (EDWARDS & EWING, 1972; WILSON & MILES, 1975; LE MINOR, 1984).

Quanto aos antígenos Vi (capsular), estes também são considerados antígenos somáticos que ocorrem como cápsulas ou envelopes e formando uma classe, que pode ser subdividida de acordo com suas características químicas e físicas. Igualmente de constituição polissacarídica, estando presentes em poucos sorovares não relacionados àqueles que causam doenças nos animais (EDWARDS & EWING, 1972; GILLESPIE & TIMONEY, 1981).

Ainda referindo-se aos aspectos antigênicos, vários antígenos somáticos (O) são determinados lisogenicamente, sendo denominados "fatores antigênicos fago-dependentes". Estes são representados por números arábicos (ex.: 1, 4, 12, 27 (*S. bredney*), ..., etc.) sublinhados, que os distinguem dos demais antígenos somáticos (WILSON & MILES, 1975).

No que concerne as drogas antimicrobianas, as cepas de *Salmonella sp* podem adquirir plasmídios contendo genes que conferem resistência aos antibióticos (LE MINOR, 1984).

WILSON & MILES (1975) relataram que até o ano de 1960, aproximadamente, todos os sorovares de *Salmonella sp* eram sensíveis a uma grande média de agentes antimicrobianos, incluindo cloranfenicol, tetraciclina, estreptomicina, canamicina,

ampicilina, cefalosporinas, sulfonamidas, nitrofuranos e trimetoprim. No entanto, a frequência da resistência para um ou mais antibióticos utilizados tem aumentado significativamente a partir de então (GILL & HOOK, 1966; POCURULL *et al.*, 1971; SOJKA *et al.*, 1972; LAKHOTIA & STEPHENS, 1973; DUCK *et al.*, 1978; BENNETT, 1980; RYDER *et al.*, 1980; REECE & COLOE, 1985; HEFFERNAN, 1991).

Já em relação aos aspectos da persistência ou viabilidade da *Salmonella sp* no meio ambiente externo, LE MINOR (1982) observou que estes microrganismos podem sobreviver de algumas semanas a vários meses sob condições de temperatura, pH e umidade favoráveis.

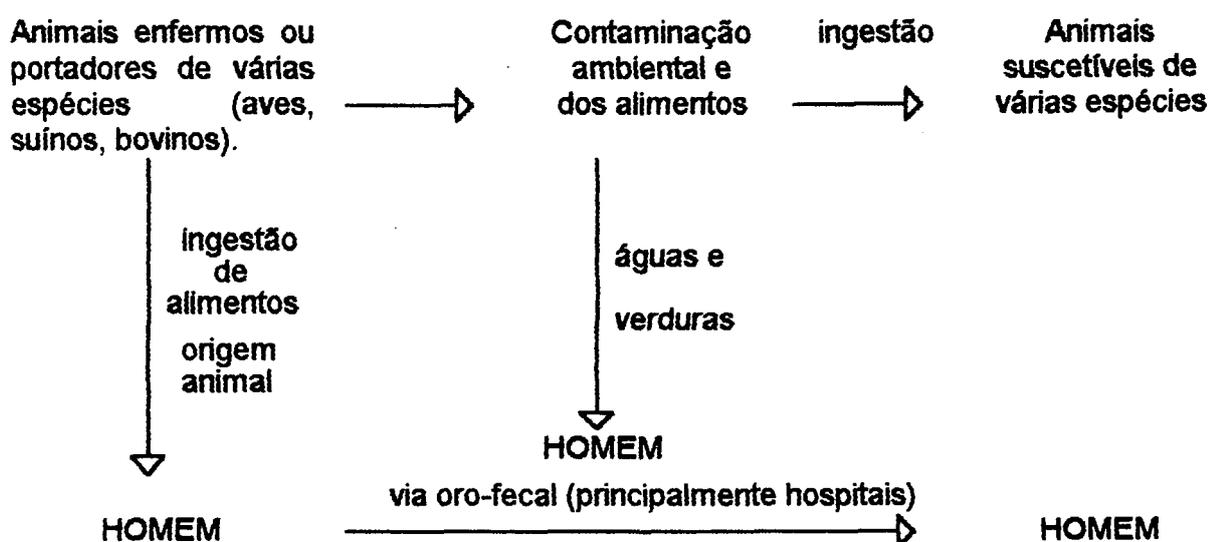
Conforme SNOEYENBOS (1984) a *S.pullorum* persiste durante anos em meio ambiente favorável, sendo pouco resistente ao calor e a outros fatores ambientais adversos, do que a maioria das salmonelas paratífóides. A *S.gallinarum*, segundo POMEROY (1984), possui a mesma resistência dos demais sorovares do gênero em condições favoráveis, permanecendo viável em ambientes sombrios e na água até por vinte dias. Porém, perece em 24 horas quando exposta ao sol. Cepas patogênicas podem permanecer viáveis na medula óssea de carcaças durante três meses a períodos mais longos.

Segundo LE MINOR (1982), os organismos deste gênero fazem parte das bactérias enteropatogênicas, de multiplicação intracelular e os aspectos relacionados aos mecanismos de virulência estão associados principalmente à sua composição lipopolissacarídica (BRUBAKER, 1985; GIANNELLA, 1986).

Denominam-se de salmoneloses as doenças causadas por estes microrganismos, tanto no homem como nos animais, sendo considerada uma zoonose (ACHA & SZYFRES, 1977). É estimada como um dos maiores problemas de saúde pública e animal. Todos os animais podem estar envolvidos na epidemiologia da doença (HINSHAW *et al.*, 1944; GALBRAITH, 1961; PERRY *et al.*, 1972; LEE, 1974; VERNON

& TILLET, 1974; ROBERTS, 1982; WALTON, 1983; WRAY, 1985; ROBERTS, 1988; SOCKETT & ROBERTS, 1991).

Seu modo provável de transmissão segundo ACHA & SZYFRES (1986) é assim descrito:



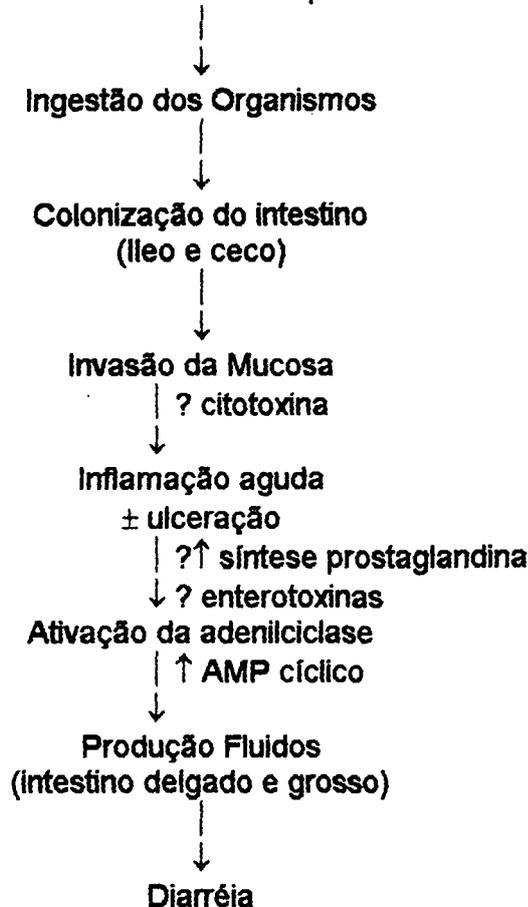
As salmonelas de origem animal causam ao homem uma infecção intestinal caracterizada por um período de incubação de 6 a 72 horas após a ingestão do alimento, ocorrendo febre, mialgias, cefaléia e mal-estar. Os sintomas principais consistem em dores abdominais, náuseas, vômitos e diarreia. A recuperação clínica sobrevém em 2 a 4 dias e o portador convalescente pode eliminá-la durante algumas semanas, mais raramente em alguns meses (ACHA & SZYFRES, 1986).

Nos animais a infecção pode manifestar-se clinicamente ou não. Na forma subclínica, pode ocorrer uma infecção latente e abrigar o patógeno nos linfonodos, podendo também ser portador e eliminador do agente pelas fezes, na forma transitória, intermitente ou persistente (ACHA & SZYFRES, 1986).

A suscetibilidade à infecção por *Salmonella sp* depende de vários fatores apresentados pelo hospedeiro, tais como idade, acidez gástrica, imunidade celular e resistência à colonização proporcionada pela microbiota do colon (PAVIA *et al.*, 1990). Organismos deste gênero são primariamente parasitas entéricos, embora também sejam isolados do sangue e órgãos (WILSON & MILES, 1975).

Quanto à patogênese, uma vez ingeridas, colonizam o íleo e o cólon, invadem o epitélio intestinal e proliferam dentro deste e folículos linfóides. A partir daí, disseminam-se aos nódulos linfáticos mesentéricos e a todo o organismo via circulação sistêmica, atingindo as células reticulo-endoteliais. Após a invasão intestinal, a maioria delas induzem uma resposta inflamatória aguda, podendo causar ulceração, bem como elaborar citotoxinas que inibem a síntese protéica. A invasão da mucosa intestinal é seguida pela ativação da adenil-ciclase, que aumenta a indução da secreção do AMP cíclico. Por sua vez, o intestino delgado e grosso secretam maior quantidade de fluidos e eletrólitos, resultando em diarreia (GIANNELLA, 1986). Esquematicamente, os eventos da infecção intestinal pelas salmonelas invasoras, causadoras de diarreia, são assim representados por GIANNELLA (1986).

Patogênese da enterite e diarréia por *Salmonella sp*



MORSE & DUNCAN (1974) estudando os efeitos das estações do ano, temperatura, umidade e fatores relacionados a estes, concluíram que as salmoneloses, tanto no homem como nos animais, são mais freqüentes nas estações quentes, quando ocorrem temperaturas de 32°C e umidade relativa de 80%.

As aves são consideradas os maiores reservatórios de *Salmonella sp* existentes na natureza. Dentre as espécies domésticas, são apontadas como as mais afetadas pela salmoneloses (GILLESPIE & TIMONEY, 1981; WILLIAMS, 1984; ACHA & SZYFRES, 1986). A doença é causada por muitos sorovares, contraídos pela ingestão de água ou ração contaminada, ou pelo contato entre aves infectadas. Esta ocorre de várias formas, causando morte repentina, depressão, anorexia, diarréia e abscessos. Os sobreviventes podem tornar-se portadores eliminando o microrganismo pelas fezes (RYAN, 1985).

A via oro-fecal é o modo mais importante de transmissão para os animais. Entretanto, nas aves, o ciclo de infecção é mais complexo, onde a fonte primária pode ser a ração contaminada e a sua disseminação ocorrer através da via oro-fecal ou pelos ovos (GILLESPIE & TIMONEY, 1981).

Além da carne e vísceras destes animais, os ovos e os alimentos feitos à base destes têm sido indicados nos últimos anos como importante veículo de transmissão. Tal fato tem gerado pesquisas para a determinação dos mecanismos de contaminação dos ovos nos sistemas de produção e motivo de apreensão pública, que tem levado a constantes avaliações do problema (DUBBERT, 1988; FANTASIA & FILETICI, 1989; RAMPLING *et al.*, 1989; GAST & BEARD, 1990).

Com relação aos aspectos relacionados ao diagnóstico da salmonelose aviária, de acordo com MALLINSON & SNOEYENBOS (1989), o isolamento de *Salmonella sp* é realizado a partir do intestino, ovário, saco pericárdico, vesícula biliar, fígado, baço, pulmão e rins (infectados menos frequentemente) em meios de cultura seletivos, não seletivos e de enriquecimento, incubados sob temperaturas de 37°C durante o período de 24-48 horas.

Os dois sorovares hospedeiro-específicos *S.pullorum* e *S.gallinarum* são responsáveis pela pulorose e tifo-aviário, respectivamente. Os sorovares móveis de *Salmonella sp* que infectam as aves, são denominados paratifo e provocam as chamadas infecções paratífóides (WILLIAMS, 1984).

Dois tipos de infecção por *Salmonella sp* ocorrem nas aves: a sistêmica, normalmente causada pela *S.pullorum* e *S.gallinarum* (TUCKER, 1967; SNOEYENBOS, 1984; POMEROY, 1984) e a entérica, cujas infecções são provocadas por outros sorovares de *Salmonella*, confinadas ao trato digestivo, provocando ocasionalmente infecções severas, se condições predisponentes favorecerem (WILLIAMS, 1984).

A localização no ovário das galinhas por outros sorovares, além das *S.pullorum* ou *S.gallinarum*, raramente ocorre. Conseqüentemente, a transmissão transovariana dos

microrganismos paratífóides é aparentemente rara nas aves, ao contrário da infecção tifo-pulorose (FADDOUL & FELLOWS, 1966). No entanto, este tipo de transmissão com os sorovares *S.enteritidis*, *S.heidelberg* e *S.typhimurium* é citado (FADDOUL & FELLOWS, 1966; SNOEYENBOS *et al.*, 1969).

O termo pulorose é usado para denominar infecções causadas pela *S.pullorum*. Foi descoberta por RETTGER em 1899 e descrita como "septicemia fatal de aves jovens". Mais tarde, em 1909, foi designada como "diarréia branca" e logo após difundida como "diarréia branca bacilar" até ser proposto em 1929 o termo "pullorum disease" ou pulcrose (SNOEYENBOS, 1984). É considerada uma enfermidade infecciosa, ocorrendo normalmente na forma sistêmica aguda em pintinhos e peruzinhos. Nas aves adultas é frequentemente localizada e crônica. Seu modo de transmissão é transovariana, ou seja, através do ovo. A manifestação clínica da pulorose é caracterizada por sonolência, fraqueza, anorexia, diarréia branca, seguida de morte rápida. O pico de mortalidade geralmente acontece na segunda e terceira semana de vida. Aves sobreviventes apresentam atraso no crescimento, porém, algumas não demonstram qualquer anormalidade e abrigam a infecção, tornando-se portadores adultos assintomáticos. As aves adultas, quando acometidas pela doença, não exibem sinais clínicos, embora possa ocorrer infecção aguda manifestada por depressão, anorexia, diarréia e desidratação. Quando a doença apresenta curso septicêmico agudo, as lesões são limitadas. O fígado mostra-se aumentado e congesto com pontos hemorrágicos. Nódulos ou focos necróticos podem estar presentes em todos os órgãos. Observa-se, ainda, esplenomegalia, má-absorção da gema e peritonite. As aves adultas normalmente não apresentam lesões, porém quando ocorrem, visualiza-se miocardite nodular, pericardite, peritonite, ovário cístico e testículos atrofiados (SNOEYENBOS, 1984).

O tifo-aviário é uma doença septicêmica das aves domésticas causada pela *S.gallinarum*. Foi diagnosticada em 1889 por KLEIN em um lote de 400 galinhas reprodutoras na Inglaterra, das quais 200 morreram nos dois primeiros meses do surto.

Observou-se principalmente enterite infecciosa, mucosa e serosa intestinal inflamadas, fezes de coloração amarelo-esverdeada, baço e fígado aumentados. KLEIN denominou o microrganismo como o *Bacillus gallinarum*. Mais tarde, em 1895, MOORE descreveu a doença como "leucemia infecciosa" e designou o agente causador como *B.sanguinarium* (BERGEY'S, 1939).

O tifo-aviário é caracterizado por uma infecção sistêmica que afeta aves adultas, especialmente galinhas e perus. O curso da doença pode ser agudo ou crônico. A disseminação ocorre de várias maneiras, mas as aves são infectadas principalmente através da transmissão vertical, ou seja, pelo ovo. O período de incubação é de 4 a 5 dias, variando com a virulência do microrganismo. Embora esteja presente mais frequentemente nas aves em crescimento e adultas, esta doença também pode ser encontrada em aves jovens, cujos sinais clínicos mostram-se semelhantes aos da pulorose. (POMEROY, 1984).

A doença manifesta-se através de sonolência, debilidade, fraqueza, palidez de crista e barbeia, temperatura elevada, diarreia amarelo-esverdeada, anemia e leucocitose. A morte sobrevém dentro de 4 dias após o início da doença, bem como antes de apresentar qualquer sintoma (GILLESPIE & TIMONEY, 1981; POMEROY, 1984). A lesão mais comumente encontrada nos surtos subagudos e crônicos é a hepatomegalia com coloração marrom-esverdeada ou bronze. São vistas ainda lesões como pequenos focos necróticos do tipo miliar no fígado e miocárdio, pericardite, peritonite, baço e rins aumentados, ovário hemorrágico e deformado, e enterite catarral (POMEROY, 1984).

Com relação às infecções paratífóides, o primeiro caso foi relatado por MOORE em 1895, em um surto de enterite infecciosa ocorrido em pombos. Nas aves domésticas, estas infecções são causadas por mais de 198 sorovares pertencentes a vários sorogrupos (WILLIAMS, 1984). O quadro clínico é semelhante àquele observado na pulorose e no tifo-aviário. Basicamente é uma doença das aves jovens e, nos casos

agudos, sinais não são evidenciados. Por sua vez, as aves adultas geralmente não exibem sinais da infecção, porém, tornam-se portadoras crônicas albergando os microrganismos no trato intestinal. Por outro lado, quando ocorre manifestação da doença, observa-se sonolência, asas caídas, penas arrepiadas, anorexia, enterite, diarréia aquosa e septicemia nos casos mais severos. A transmissão ocorre principalmente pela contaminação fecal das cascas dos ovos durante o processo de postura, através das aves adultas portadoras e raramente pela via transovariana (GILLESPIE & TIMONEY, 1981; WILLIAMS, 1984). As lesões post-mortem normalmente observadas são má-absorção da gema, fígado e baço congestos com focos necróticos, rins congestos e pericardite. Nos casos agudos as lesões podem estar totalmente ausentes (WILLIAMS, 1984).

Na análise individual de cada trabalho publicado relacionando *Salmonella sp* às aves domésticas, encontramos as seguintes referências:

Na Inglaterra e País de Gales, BLAXLAND *et al.* (1958) nos anos de 1948-1956 examinaram 18.422 lotes de aves domésticas (galinhas, perus, patos e gansos) enviados para exames post-mortem rotineiros, com idade variando de um dia a quatro semanas. O sorovar *S.pullorum* foi isolado de 8,38% das aves, *S.typhimurium* de 3,2% e *S.thompson* de 1,5%. Em relação ao número total das aves analisadas, 2.262 sorovares de *Salmonella* foram isolados somente de pintinhos. Destes, 1.543 (68,2%) estavam infectados com *S.pullorum*, 382 (16,9%) com *S.typhimurium*, 250 (11,0%) com *S.thompson*, 34 (1,5%) com *S.gallinarum*, 10 (0,44%) com *S.anatum* e 4 (0,18%) com *S.enteritidis*.

Nos países mencionados SOJKA & FIELD (1970) diagnosticaram a infecção por *Salmonella* em várias espécies animais, no período de 1958 a 1967. Do total de 19.371 surtos relatados, as aves domésticas e silvestres participaram com 8.575 casos (44,3%), dos quais 3.204 foram devidos à *S.gallinarum* (37,4%), 2.576 à *S.pullorum* (30,0%), 1.523 à *S.typhimurium* (17,8%), 495 à *S.thompson* (5,7%), 221 à *S.menston* (2,6%) e

138 à *S. enteritidis* (1,6%). Dos 8.575 casos descritos nas espécies aviárias, 98,6% (8.451) foram observados nas aves domésticas. Deste total, 86,6% (7.542 casos) ocorreram em galinhas, 7,6% em perus (645 casos), 4,0% em patos (338 casos) e 0,16% em gansos (16 casos). Os pesquisadores notaram uma diminuição significativa na incidência de salmoneloses nestas aves, devido ao programa de testes sorológicos anuais de aglutinação em placa, com remoção dos reagentes positivos.

Ainda nos mesmos países SOJKA *et al.* (1975) verificaram durante os anos de 1968 a 1973 a incidência das salmoneloses nas aves domésticas. O sorovar *S. typhimurium*, com 41,1%, foi o mais freqüentemente isolado, seguido pela *S. enteritidis* com 6,2%, *S. pullorum*, 3,9%, e *S. gallinarum*, 2,8%. Os autores observaram um declínio nos surtos causados por *S. pullorum* e *S. gallinarum* nos anos de 1972 e 1973. Dos 1.548 casos estudados, 1.255 (81%) estavam presentes nas aves domésticas e 293 (18,9%) em várias espécies de aves silvestres.

BORLAND (1975) observou que há cerca de 20 anos, as infecções sistêmicas causadas pela *S. pullorum* e *S. gallinarum* representavam grandes prejuízos econômicos à indústria avícola britânica. Mais recentemente, como ambos microrganismos estão erradicados, os surtos que ocorrem são causados por sorovares que se encontram confinados principalmente no intestino. O autor enfatizou que a doença clínica não é comum nas aves, entretanto, os maiores problemas são representados pelos portadores sadios, pois atuam como potencial fonte de disseminação da infecção. Ressaltou ainda que qualquer sorovar pode tornar-se essencialmente patógeno, citando como exemplo *S. virchow* considerada de pouca importância até adaptar-se às aves e causar grandes surtos de toxi-infecções alimentares no norte da Inglaterra nos anos de 1967 e 1968.

Atualmente o sorovar *S. pullorum* foi eliminado dos lotes de aves industriais no Reino Unido, em parte devido ao sucesso da utilização do teste de aglutinação rápida do sangue total, com a eliminação dos reagentes positivos (THAIN & BLANDFORD, 1981). Ainda na Inglaterra e País de Gales, WRAY (1985) pesquisou a prevalência de

salmonelose em várias espécies de animais domésticos no período de 1975 a 1983. Observou que durante a pesquisa ocorreram 8.140 casos de infecção por *Salmonella* nas aves domésticas e que as incidências de *S.pullorum* com 64 (0,8%) e *S.gallinarum* com 7 (0,1%) casos, permaneceram baixas. Ressaltando que não havia isolamento de *S.gallinarum* desde 1978. Os sorovares *S.typhimurium* com 1.026 (12,6%) e *S.senftenberg* com 908 (11,2%) casos, foram os mais incidentes, enquanto *S.agona* com 597 (7,3%) casos, diminuiu sensivelmente desde o ano de 1981. No período da pesquisa, o autor observou 419 casos de salmoneloses ocorridos na Escócia, sendo *S.typhimurium* a mais isolada, seguida da *S.hadar* isolada de seis surtos.

Nos Estados Unidos em 1957, foram sorotipadas 850 culturas de *Salmonella* provenientes de várias espécies animais. As aves domésticas contribuíram com o maior número dos isolamentos, 622 (73,2%), dos quais, 326 (52,4%) eram de perus, 193 (31,0%) de galinhas, 8 (1,3%) de gansos e 95 (15,3%) de espécies não definidas. A *S.typhimurium* predominou entre os isolamentos de perus, no entanto, em galinhas, *S.heidelberg* e *S.infantis* participaram com 8,0% e 6,7% respectivamente, enquanto a *S.pullorum* atingiu 3,9% das aves (MORAN, 1959). O autor enfatizou a participação da *S.heidelberg* e *S.infantis* em anos anteriores pouco isolados. Posteriormente, observou que das 1.855 cepas bacterianas isoladas de várias fontes animais, 855 (46%) pertenciam ao gênero *Salmonella*, destacando-se a participação da *S.arizonae* com 122 amostras. Entre as aves, foram encontrados 32 diferentes sorovares sendo *S.pullorum* o mais comumente isolado (MORAN, 1960).

No mesmo país, com o objetivo de determinar a freqüência de *Salmonella sp* nas aves domésticas FADDOUL & FELLOWS (1966) pesquisaram, no período de 1960 a 1964, 4.454 casos enviados para exames laboratoriais. Deste total, 245 (5,5%) cepas do microrganismo foram isolados e 34 (13,8%) sorovares identificados. *S.typhimurium* foi o sorovar mais frequentemente encontrado dentre as espécies aviárias examinadas. *S.pullorum* e *S.gallinarum* foram isoladas em dois casos (1 pintinho e 1 galinha

respectivamente). Nesta pesquisa, os autores observaram que aproximadamente 75% dos isolamentos eram provenientes de galinhas sorologicamente positivas e aparentemente saudáveis (portadoras).

Também nos Estados Unidos, BRUNER (1973) isolou 3.945 amostras de *Salmonella sp* abrangendo 30 diferentes espécies animais, sendo que 3.309 (83,8%) destes isolamentos foram de aves em geral, assim distribuídos: 1.694 (51,2%) provenientes de galinhas; 874 (26,4%) de patos; 482 (14,5%) de perus; 188 (5,7%) de pombos; 42 (1,2%) de pássaros silvestres e 29 (0,8%) de faisões e perdizes. *S.typhimurium* (46,0%) foi o sorovar mais incidente dos isolamentos, seguido da *S.pullorum* (20,0%), *S.infantis* e *S.anatum* (3,0%), *S.enteritidis* (2,2%) e *S.gallinarum* (0,5%).

Na França, LAHELLEC *et.al.*(1986), para determinar a incidência de diferentes sorovares de *Salmonella sp* em granjas avícolas, no período inicial e final de crescimento das aves, investigaram 5.329 amostras (paredes, bebedouros, comedouros, cama, ração, água, pintinhos, etc.) de 10 propriedades. Dos 180 lotes examinados, 34 (18,9%) estavam infectados no primeiro dia, aumentando significativamente para 96 (53,3%) na fase final. Conforme os autores, baixos percentuais ou ausência da bactéria nos primeiros dias não significa necessariamente que não ocorrerá contaminação durante o crescimento. Além do que, sorovares identificados no primeiro dia permanecem no ambiente e podem ser encontrados no final do crescimento. Das amostras colhidas nas 10 propriedades, 475 estavam contaminadas e delas foram isolados 329 (69,3%) sorovares no primeiro dia. Do total de 557 amostras de ração, somente 7 estavam contaminadas e os seguintes sorovares isolados: *S.saint-paul*, *S.senftenberg*, *S.livingstone*, e *S.infantis*. As paredes dos aviários (16), pintinhos (9), cama (7), comedouros (4) e bebedouros (3) apresentaram índices consideráveis de isolamento. Os sorovares mais frequentemente encontrados nas várias fontes analisadas foram: *S.infantis*, *S.saint-paul*, *S.thompson*, *S.senftenberg*, *S.livingstone*, *S.montevideo*, *S.newport*, *S.typhimurium* e *S.heidelberg*.

Na Romênia, SIDDIQUE *et al.* (1983), com o objetivo de verificar a incidência dos diferentes sorovares de *Salmonella sp* e as possíveis fontes de infecção das aves domésticas, investigaram 2.360 amostras, provenientes de aves de exploração industrial e de criação caseira. As amostras compreenderam aves vivas, carcaças, fezes, ovos, ração, água, cama, patos, etc., das quais, 47 cepas do citado microrganismo foram isolados e 8 sorovares identificados. *S.typhimurium* foi o sorovar mais comumente isolado (19), seguida da *S.blocley* (7), *S.heidelberg* (6), *S.agona* (4), *S.anatum* (4), *S.remo* (4), *S.newport* (2) e *S.infantis* (1). Os autores observaram uma incidência de 1,83 a 2,71% nos diferentes materiais investigados.

Em Portugal, MACHADO & BERNARDO (1990) para determinar a prevalência de *Salmonella sp*, examinaram 300 carcaças de aves, das quais encontraram 171 (57%) positivas. Observaram que a *S.enteritidis* (65,5%) foi o sorovar mais frequentemente isolado, seguido da *S.agona* (11,7%), *S.saint-paul* (6,4%), *S.newport* (6,4%), *S.derby* (3,5%), *S.typhimurium* (2,9%), *S.ohio* (0,6%) e *S.bardo* (0,6%).

Com relação à salmonelose aviária em nosso país, encontramos os seguintes trabalhos:

No Estado de São Paulo, REIS *et al.* (1955), examinaram 17.753 casos de doenças de aves enviadas para diagnóstico ao Instituto Biológico no período de 1930 a 1953. Nestes, verificaram 770 (4,43%) casos de pulorose, dos quais 762 ocorridos em galinhas (82% em aves jovens e 18% em adultas), 3 em patos, 4 em perus e 1 em uru (*Odontophorus capueira*). O tifo-aviário participou com 325 (1,82%) casos, sendo 319 em galinhas (89% em aves adultas e 11% em jovens), 4 em perus, 1 em ganso e 1 em macuco.

No mesmo Estado, BUENO *et al.* (1962), realizaram um segundo levantamento de doenças de aves diagnosticadas no Instituto Biológico, compreendendo os anos de 1954 a 1960. O número de aves recebido para necrópsia aumentou substancialmente para 28.147 casos. Foram examinados 1.425 (5,06%) casos de pulorose distribuídos nas

seguintes espécies: galinhas, 1.419 (89,43% em aves jovens e 10,57% em adultas), peru (4), papagaio (1) e canário (1). Verificou-se um aumento de 14,22% de casos diagnosticados desta doença durante o período de 1954 a 1960. Dos 598 (2,12%) casos de tifo-aviário, 593 (86% em aves adultas e 14% em jovens) aconteceram nas galinhas, 3 em perus, 1 em marreco e 1 em pardal. Houve uma elevação de 16,48% em relação aos casos diagnosticados no período anterior.

Ainda no Estado de São Paulo, BUENO *et al.* (1971) apresentaram a terceira análise realizada no mesmo Instituto, sobre a ocorrência de doenças avícolas no período de 1961 a 1967, totalizando 24.217 casos. Destes, foram identificados 937 (3,87%) surtos de pulorose, entre os quais, 933 em galinhas (93,9% em aves jovens e 6,1% em adultas), 3 em faisão e 1 em codorna. Quanto ao tifo-aviário, dos 216 (0,89%) casos observados, 215 acometeram as galinhas (77,2% em aves adultas e 22,8% nas jovens) e apenas um caso em peru.

Naquele Estado, SILVA (1978), com o objetivo de demonstrar a disseminação de sorovares de *Salmonella sp* especialmente a *S.arizonae*, analisou lotes de galinhas e perus aparentemente normais de criações do tipo industrial. Verificou que dos 400 espécimes colhidos (fezes cecais e embriões), a referida bactéria estava presente em 24 (6,0%) amostras. Das galinhas, eram isoladas também *S.typhimurium* e *S.saint-paul*, e de perus além destes microrganismos observou também a presença de *S.eimsbuettel* e *S.arizonae*.

No Rio Grande do Sul, SALLE *et al.* (1975), analisando casos chegados para exames laboratoriais, verificaram que o tifo e a pulorose eram endêmicas naquele estado e que a via principal de transmissão era a vertical.

Ainda no mesmo Estado SALLE *et al.* (1979), obtiveram um percentual médio de 8,42% de casos tifo-pulorose no período de 1972 a 1978, a partir de amostras de aves (galinhas) enviadas para diagnóstico.

No Rio de Janeiro, HOFER (1985), analisou 1.447 amostras de *Salmonella sp* oriundas de aves, rações ou um dos seus constituintes, de diferentes regiões do país no período de 1966 a 1984. Nas 851 culturas isoladas das aves, foram identificados 47 (5,5%) sorovares, entre os quais, os mais incidentes foram *S.pullorum* (29,9%), *S.gallinarum* (28,4%), *S.typhimurium* (7,9%), *S.derby* (6,3%) e *S.oranienburg* (5,1%). Segundo o autor, dentre as 851 culturas de *Salmonella sp* isoladas das aves, 95% originaram-se de *Gallus gallus domesticus*, nas várias faixas etárias, com predominância dos jovens e os 5% restantes resultaram de isolamentos a partir de perus, pombos, codornas, aves silvestres e pássaros.

No que tange a isolamentos especificamente relacionados a *S.enteritidis* afetando as aves domésticas encontramos algumas referências:

FANTASIA *et al.* (1991) observaram durante uma pesquisa de onze anos, que a *S.enteritidis* foi responsável por 5,45% dos 118.685 isolamentos de *Salmonella sp* na espécie humana e por 2,65% amostras isoladas de alimentos. Os autores ressaltam que no mesmo período o citado microrganismo estava presente em 7,4% dos 568 isolamentos provenientes de ovos e aves. Foi considerado o sorovar mais incidente dos casos humanos.

Segundo O'BRIEN (1988), este microrganismo, ao contrário da maioria do gênero que estão associados com toxi-infecções humanas, provoca doença clínica nas aves. O autor observou sua presença nos exames bacteriológicos da gema do ovo, indicando que pode ocorrer transmissão transovariana. Fato também confirmado por LISTER (1988) e SHIVAPRASAD *et al.* (1990).

Por sua vez, HOPPER *et al.* (1988) verificaram a prevalência da infecção de *S.enteritidis*, examinando bacteriologicamente 50 amostras de um lote de aves de postura comercial. Nestes exames, os autores encontraram 13 (2,6%) amostras positivas e delas 6 (12,0%) aves apresentaram infecção ovariana e 4 (8,0%) infecção hepática. Também houve isolamento dos cecos, oviduto e gema do ovo.

Já HINTON *et al.* (1989) isolaram a referida bactéria do conteúdo cecal de 6 (4,0%) das 146 aves testadas, observando que a taxa de isolamento do fígado após cultura direta variou entre 27 e 100%. Estes dados viriam confirmar a capacidade invasiva da *S. enteritidis* para as aves jovens.

De acordo com McLLROY *et al.* (1989), a transmissão vertical deste microrganismo é a maior causa para seu estabelecimento como um importante patógeno da indústria avícola. Embora esta transmissão resulte em sinais clínicos nas aves jovens, a infecção pode ocorrer nas aves adultas sem apresentar sinais aparentes. Podendo instalar-se em qualquer estágio da produção e permanecer sem ser detectada, a menos que seja utilizado um monitoramento efetivo.

No Canadá, POPPE *et al.* (1991), com o propósito de estimar a frequência de *Salmonella sp.*, em particular *S. enteritidis*, entre as aves de postura comercial, examinaram 295 lotes selecionados aleatoriamente. *S. heidelberg* foi o sorovar mais frequentemente isolado, enquanto a *S. enteritidis* foi encontrada em menos de 3% dos lotes.

No que diz respeito a testes sorológicos, SNOEYENBOS (1984) observou que para a detecção de aves infectadas, os resultados de uma única prova não são suficientes para a completa eliminação da ave portadora, devido a três possíveis características:

1. Os títulos das aglutininas do soro das aves infectadas tendem a oscilar e podem tornar-se negativos por breves períodos na produção de aglutininas significantes;
2. Ocorre uma demora de vários dias entre a infecção e o desenvolvimento das aglutininas;
3. Pode existir um reservatório ambiental após a remoção dos reagentes, transformando-o como fonte de infecções futuras.

No Togo, GRUNDLER *et al.* (1988) verificaram a frequência das doenças infecciosas que atingem as criações de aves domésticas de pequenas propriedades.

Destas foram examinadas sorologicamente 241 amostras de 5 localidades diferentes, das quais 9 (3,7) apresentaram títulos positivos para *S.pullorum* e *S.gallinarum*.

Na Nigéria, COURTECUISSE *et al.* (1990), investigaram sorologicamente a incidência das doenças aviárias que normalmente ocorrem no meio rural. Dos 230 soros testados de vários locais, 108 (47,0%) reagiram positivamente para pulorose.

Nos Estados Unidos, WALTMAN & HORNE (1993), realizaram durante 3 anos, investigações sorológicas de 134.171 amostras de soro de aves através da prova de aglutinação em tubo para a pulorose e tifo-aviário. Dos 680 (0,5%) reagentes, isolou-se *Salmonella sp* de 226 (33,2%) aves testadas. Destes foram obtidos 13 sorovares, sendo predominantes *S.heidelberg*, *S.pullorum*, *S.kentucky*, *S.saintpaul* e *S.enteritidis*, os quais foram isolados de 60%, 18%, 5%, 4% e 3% das aves, respectivamente.

Na Austrália, SOERJADI-LIEM & CUMMING (1984) verificaram a presença de portadores de *Salmonella sp*, analisando a porção cecal de aves colhidas a nível de abatedouro. Dos 20 lotes examinados, 12 (60%) estavam contaminados com o microrganismo. Cinco sorovares foram encontrados, sendo a *S.typhimurium* (93,4%) a mais freqüente, seguida da *S.singapore* (3,8%), *S.eimsbeuttel* (1,9%), *S.havana* (0,5%) e *S.luanhya* (0,5%).

No que diz respeito à dinâmica da transmissão da infecção de *Salmonella sp*, FORSYTHE *et al.* (1967), administraram via oral doses de *S.lexington* e *S.anatum* em galinhas de postura. Nenhuma delas foi isolada dos órgãos reprodutivos destas aves, não ocorrendo a transmissão transovariana. No entanto, verificaram que houve isolamento nas fezes, sugerindo a possibilidade da contaminação na casca dos ovos e, conseqüentemente, do conteúdo dos mesmos. A inoculação direta no ovário com *S.anatum* não estabeleceu uma infecção localizada dos órgãos reprodutivos, enquanto que a inoculação direta com *S.pullorum* resultou em uma infecção ovariana e produção de ovos contendo este microrganismo.

SNOEYENBOS *et al.* (1967), analisaram 4.518 amostras (farinhas, ração, água, poeira, cama) de vários lotes de uma granja industrial. Concluíram que as culturas da cama eram o método mais eficiente para detectar lotes infectados, uma vez que obtiveram isolamento de *S.montevideo* de 87,5% das amostras examinadas.

Segundo WILLIAMS (1978) amostras ambientais como a cama das aves não são confiáveis na detecção de lotes infectados com *S.pullorum* ou *S.gallinarum*, uma vez que a sobrevivência das salmonelas em camas úmidas é precária.

No entanto, FANELLI *et al.* (1970) sugerem que a cama utilizada eventualmente desenvolva substâncias inibitórias para *Salmonella sp* e, assim reduziriam seu número na própria cama, ou influenciariam na persistência do microrganismo no trato intestinal da ave.

SIMMONS & BYRNES (1972) obtiveram isolamentos de *Salmonella sp* nas várias amostras examinadas, observando que a maior taxa de contaminação estava presente na cama das aves. Das 45 amostras testadas, 42 (93,3%) estavam infectadas.

WIERUP *et al.* (1988) avaliaram o controle de contaminação de *Salmonella sp*, administrando cultura bacteriana dos cecos de aves adultas para as jovens. Do total de 2,8 bilhões de aves, 144 lotes receberam a cultura. Destes, somente um apresentou infecção representando 0,21 milhão (0,73%) sobre as aves testadas. Nos lotes não administrados, verificaram 87 infectados, significando que 1,6 milhões (1,35%) dos 123,2 bilhões de aves que não receberam a cultura. As avaliações destes dados e a utilização da cultura bacteriológica durante um surto epidêmico, associado à ausência da infecção, provou conclusivamente, de acordo com os autores, que a mesma protege as aves e portanto controla a contaminação do citado microrganismo, especialmente a nível de campo.

MCBRIDE *et al.* (1991), conduziram uma pesquisa sobre os aspectos sanitários apresentados pelas aves de criações caseiras, pouco distantes de criações de perus-de-corte, com o objetivo de verificar a possível participação das mesmas como fonte de

infecção a estas propriedades. Foram colhidas 367 amostras de sangue de galinhas e 13 de perus das pequenas criações. Os resultados destas amostras, apresentaram aves reagentes para *S.pullorum* e para outros agentes infecciosos, indicando que aves de quintal podem atuar como fonte de infecção de várias doenças às explorações industriais.

Em relação aos aspectos da infecção-doença do citado microrganismo NURMI & RANTALA (1973), em suas pesquisas, concluíram que um pequeno número do mesmo seria suficiente para colonizar o intestino de aves jovens, o que não ocorreria com as aves adultas.

GAST & BEARD (1989) avaliaram experimentalmente a influência da idade das aves jovens na persistência e aderência de *Salmonella* no trato intestinal e nos tecidos, inoculando *S.typhimurium* via oral. A freqüência do isolamento da mesma dos cecos variou inversamente com a idade das aves inoculadas. As taxas de mortalidade em grupos de pintinhos inoculados com diferentes idades variaram diretamente com o número de aderência cecal. Nas aves de um dia de idade, houve maior aderência após 2 dias da inoculação do que naquelas com 3,5 ou 7 dias. Os altos percentuais de isolamento de *S.typhimurium* obtidos a partir de fígados e baços, sugerem que o desenvolvimento da doença clínica exige mais do que a simples passagem bacteriana através da barreira intestinal. As diferenças de persistência no trato intestinal nas aves inoculadas com várias idades poderiam ser devidos a alterações quantitativas iniciais na colonização epitelial ou indicariam alterações qualitativas na natureza da interação entre células bacterianas e sítios receptores intestinais. Segundo os autores, este experimento confirmou que aves jovens são mais suscetíveis à colonização persistente da bactéria no trato intestinal, possivelmente como conseqüência da alta taxa de aderência devido a ausência de uma microbiota estabelecida na exposição inicial.

Tendo em vista os surtos causados pela *S.stanley* nas aves domésticas, RAO & CHAUHAN (1987), verificaram sua patogenicidade, infectando aves de várias idades, pelas vias oral, endovenosa e intramuscular. A pericardite e a congestão pulmonar foram

mais severas nos grupos inoculados intramuscular e endovenosamente do que naqueles infectados via oral. As taxas de mortalidade foram de 100% pela via oral e endovenosa e 95% pela via intramuscular.

Segundo BAILEY (1987), existe uma relação comensal entre a colonização de *Salmonella* e o hospedeiro. A saúde da ave não é prejudicada pelo microrganismo, uma vez estabelecido ela própria tenta livrar-se dele. Por isso, é comum sugerir que as aves são colonizadas e não infectadas, diferente da infecção, que causaria um problema patológico às mesmas.

Com o objetivo de verificar o período de eliminação das *Salmonellas*, GIBBONS & MOORE (1946) administraram via oral uma suspensão aquosa de *S.bareilly*. Nas quatro aves inoculadas, observaram que a mesma esteve presente nas fezes entre dois a quatro dias após a infecção. Porém, quando inoculadas com suspensões mais densas, havia presença contínua durante 18 a 38 dias. A bactéria foi isolada da casca de 3 (8,1%) ovos dos 37 produzidos durante a infecção.

Conforme SCHLEIFER (1985), vários métodos foram tentados para eliminar estes microrganismos das aves domésticas. Contudo, estas técnicas têm apresentado resultados limitados e a doença continua preocupante. Entre as várias técnicas, segundo os autores, destaca-se a da exclusão competitiva (EC), cuja finalidade é aumentar a resistência das aves jovens às infecções. Ela consiste na inoculação da microbiota de aves adultas sadias às jovens, que ao aderir à mucosa intestinal formaria um tapete de microcolônias, diminuindo o número de sítios receptores disponíveis para uma futura colonização por *Salmonella sp.*

No que se refere a doença clínica, LAURSEN-JONES (1968) diagnosticou uma infecção provocada pela *S.typhimurium* em um lote de frango-de-corte com doze dias de idade. As perdas atingiram 3,7% das aves, e as lesões post-mortem visualizadas incluíam pericardite, focos necróticos no fígado e nódulos cecais. No acompanhamento da evolução da doença, o autor encontrou aos 19 dias de idade anormalidade ocular

unilateral. Aos 28 dias o lote não apresentou agravamento do quadro, embora ainda houvesse um número significativo de aves cegas.

No México, PADRON (1990), descreveu a ocorrência de um surto pelo mesmo microrganismo em frangos-de-corte de 1 a 2 semanas de idade. As aves apresentavam atraso no crescimento, cegueira, torcicolo e claudicação. As lesões post-mortem consistiam em panoftalmia, hepatomegalia com focos necróticos, esplenomegalia, pericardite, retenção de saco vitelino e artrite purulenta. A mortalidade variou de 4,3% a 10,6%.

Recentemente foi relatado nos Estados Unidos por ERBECK *et al.* (1993) a ocorrência de um surto de pulorose com sinais clínicos atípicos em duas criações de aves caseiras. Os lotes eram constituídos de galinhas-de-postura, com idades entre cinco meses a dois anos. Os autores observaram em um lote mortalidade súbita das aves adultas, sem qualquer sinal clínico aparente, enquanto o outro apresentou enfermidade com emagrecimento, envolvimento respiratório e alta mortalidade.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. MATERIAL ANALISADO**

##### **3.1.1. Origem das Amostras**

No período de 1987 a 1991 foram examinadas 671 aves, oriundas de criações caseiras com histórico de mortalidade. Essas aves pertenciam a propriedades distintas, localizadas em municípios do Estado do Paraná.

##### **3.1.2. Envio das Amostras**

Visceras ou aves mortas inteiras com suspeita de doença septicêmica eram enviadas ao Laboratório de Bacteriologia do Centro de Diagnóstico Marcos Enrietti. Os materiais remetidos eram acondicionados em sacos plásticos individuais, colocados em caixas de isopor e mantidos em gelo até a chegada ao laboratório.

## 3.2. MATERIAL DE LABORATÓRIO

### 3.2.1. Meios de Cultura, Reagentes e Soluções

#### 3.2.1.1. Base de Ágar Sangue

Extrato de músculo cardíaco .....	375,0 g
Peptona de carne.....	10,0 g
Cloreto de sódio.....	5,0 g
Ágar.....	15,0 g

Preparo: eram dissolvidos 40 gramas do meio desidratado em 1000 ml de água destilada. Deixava-se hidratar por 5 a 10 minutos e aquecia-se até o ponto de ebulição, agitando frequentemente até a completa dissolução. Esterilizava-se em autoclave a 121°C durante 15 min. O meio já esterilizado era resfriado a temperatura de 45-50°C e adicionava-se 50 ml de sangue ovino desfibrinado. Após a homogenização, evitando a formação de bolhas de ar, eram distribuídos volumes de aproximadamente 12 ml em placas de Petri de 15 x 100 mm. Após o resfriamento, os meios eram mantidos em geladeira a 4°C.

#### 3.2.1.2. Ágar MacConkey

Peptona .....	17,0 g
Proteose Peptona .....	3,0 g
Lactose .....	10,0 g
Sais biliares.....	1,5 g

Cloreto de sódio.....	5,0 g
Vermelho Neutro.....	0,03 g
Cristal Violeta.....	0,001 g
Ágar.....	13,5 g

**Preparo:** eram dissolvidos 50 gramas de meio desidratado em 1000 ml de água destilada. Deixava-se hidratar por 5 a 10 minutos e aquecia-se até o ponto de ebulição, agitando frequentemente até a completa dissolução. Ajustava-se o pH para 7,1 e esterilizava-se em autoclave a 121°C durante 15 minutos. O meio era resfriado até a temperatura de 45-50°C e distribuídos volumes de aproximadamente 12 ml em placas de Petri de 15 x 100 mm. Após o resfriamento, os meios eram mantidos em geladeira a 4°C.

### 3.2.1.3. Ágar Salmonella-Shigella

Extrato de carne.....	5,0 g
Peptona especial.....	5,0 g
Lactose.....	10,0 g
Bile bovina dessecada.....	8,5 g
Citrato de sódio.....	10,0 g
Tiosulfato de sódio.....	8,5 g
Citrato férrico.....	1,0 g
Verde brilhante.....	0,0003 g
Vermelho neutro.....	0,025 g
Ágar-ágar.....	12,0 g

**Preparo:** eram dissolvidos 60 gramas do meio desidratado em 1000 ml de água destilada, deixando em repouso durante 15 minutos. Ajustava-se o pH para 7,1. Aquecia-se com constante agitação, em banho-maria até a completa dissolução, evitando-se qualquer aquecimento posterior do meio. Após o resfriamento, o meio era distribuído em placas de Petri de 15 x 100 mm, em camadas espessas, enquanto ainda estivesse líquido, permitindo a solidificação pelo resfriamento. Os meios eram mantidos em geladeira a 4°C.

#### 3.2.1.4. Caldo Selenito

Bacto-triptona.....	5 g
Bacto-lactose .....	4 g
Selenito de sódio.....	4 g
Fosfato de sódio .....	10 g

**Preparo:** eram dissolvidos 23 gramas do meio desidratado em 1000 ml de água destilada. Deixava-se hidratar por 5 a 10 minutos e aquecia-se até o ponto de ebulição, evitando aquecimento excessivo, não utilizando a esterilização por autoclave. O meio era então distribuído em volumes de 5 ml em tubos de ensaio estéreis de 16 x 150 mm. Após o envasamento eram mantidos na temperatura ambiente entre 15-30°C.

#### 3.2.1.5. Ágar Três Açúcares e Ferro

Peptona de caseína.....	15,0 g
Peptona de carne.....	5,0 g
Extrato de carne.....	3,0 g

Extrato de levedura .....	3,0 g
Cloreto de sódio .....	5,0 g
Lactose .....	10,0 g
Sacarose .....	10,0 g
Glicose .....	1,0 g
Citrato ferro amoníaco .....	0,5 g
Tiosulfato de sódio .....	0,5 g
Vermelho de fenol .....	0,024 g
Ágar-ágar .....	12,0 g

**Preparo:** eram dissolvidos 65 gramas do meio desidratado em 1000 ml de água destilada. Deixava-se hidratar por 5 a 10 minutos e aquecia-se até o ponto de ebulição, agitando frequentemente até a completa dissolução. Ajustava-se o pH para 7,4 e distribuía-se a solução em volumes de 5 ml em tubos de ensaio de 13x100 mm. Esterilizava-se em autoclave a 121°C durante 15 minutos. Resfriava-se os tubos, em posição inclinada, de modo que o meio no fundo do tubo alcançasse uma profundidade de 1,5 a 2 cm e formasse na superfície uma base inclinada. Após o resfriamento, os meios eram mantidos em geladeira a 4°C.

### 3.2.1.6. Caldo Uréia de Christensen

Peptona de carne .....	1,0g
D(+) Glicose .....	1,0 g
Cloreto de sódio .....	5,0 g
Fosfato de potássio monobásico .....	2,0 g
Azul de bromotimol .....	0,012 g

Água destilada ..... 1000 ml

Aditivo:

Uréia ..... 20 g

Preparo: eram dissolvidos 21 gramas do meio desidratado em 1000 ml de água destilada. Deixava-se hidratar por 5 a 10 minutos e aquecia-se até o ponto de ebulição, agitando frequentemente até a completa dissolução. Ajustava-se o pH para 6,8 e esterilizava-se em autoclave a 121°C durante 15 minutos. O meio base era resfriado até 45°C e incorporava-se no mesmo 50 ml de solução (esterilizada por filtração) de uréia a 40%. Distribuía-se a solução em volumes de 5 ml em tubos de ensaio de 13 x 100 mm na posição vertical e resfriava-se os meios, mantendo-os em geladeira a 4°C.

### 3.2.1.7. Meio de SIM (H<sub>2</sub>S, Indol, Motilidade)

Extrato de carne ..... 3,0 g

Peptona ..... 30,0 g

Ferro peptonizado ..... 0,2 g

Tiosulfato de sódio ..... 0,025 g

Ágar ..... 3,0 g

Preparo: eram dissolvidos 36 gramas do meio desidratado em 1000 ml de água destilada. Deixava-se hidratar por 5 a 10 minutos e aquecia-se até o ponto de ebulição, agitando frequentemente, até a completa dissolução. Ajustava-se a pH para 7,3 e distribuía-se a solução em tubos de ensaio a uma altura de aproximadamente 4 cm. Esterilizava-se em autoclave a 121°C durante 15 minutos e deixava-se solidificar

mantendo-os em posição vertical. Após o resfriamento, os meios eram mantidos em geladeira a 4°C.

#### 3.2.1.8. Meio MR-VP

Peptona .....	7,0 g
Fosfato dipotássico .....	5,0 g
Dextrose.....	5,0 g

Preparo: eram dissolvidos 17 gramas do meio em 1000 ml de água destilada. Deixava-se hidratar e aquecia-se até o ponto de ebulição agitando frequentemente até a completa dissolução. Ajustava-se o pH para 6,9 e distribuía-se a solução em volumes de 4 ml em tubos de ensaio de 13 x 100 mm. Esterilizava-se em autoclave a 121°C durante 15 minutos. Estes meios eram resfriados e mantidos em geladeira a 4°C.

#### 3.2.1.9. Ágar Citrato de Simmons

Amônio dehidrogenofosfato .....	1,0 g
Fosfato dipotássico .....	1,0 g
Cloreto de sódio.....	5,0 g
Citrato de sódio.....	2,0 g
Sulfato de magnésio .....	0,2 g
Azul de bromotimol .....	0,08 g
Ágar .....	15,0 g

Preparo: eram dissolvidos 24,2 gramas do meio desidratado em 1000 ml de água destilada. Deixava-se hidratar por 5 a 10 minutos e aquecia-se até o ponto de ebulição, agitando frequentemente até dissolver completamente. Ajustava-se o pH para 6,8 e distribuía-se a solução em volumes de 5 ml em tubos de ensaio de 13 x 100 mm. Esterilizava-se em autoclave a 121°C durante 15 minutos e resfriava-se os tubos na posição inclinada até a solidificação do ágar. Os meios eram mantidos em geladeira a 4°C.

#### 3.2.1.10. Meio de Cianeto de Potássio (KCN), segundo MOLLER

Peptona .....	10,0 g
Fosfato potássico monobásico.....	0,225 g
Fosfato sódico dibásico.....	5,64 g
Cloreto de sódio.....	5,00 g
Água destilada .....	1000 ml
Aditivo:	
Cianeto de potássio .....	0,5 g

pH após esterilização: 7,6

Preparo: eram dissolvidos 13,8 gramas do meio desidratado em 1000 ml de água destilada. Deixava-se hidratar por 5 a 10 minutos e aquecia-se até o ponto de ebulição, agitando frequentemente até a completa dissolução. Esterilizava-se em autoclave a 121°C durante 15 minutos e após o completo resfriamento, adiciona-se 15 ml de uma solução de KCN a 0,5% (0,5 gramas de KCN em 100 ml de água destilada estéril). Distribuía-se assepticamente a solução em volumes de 4 ml em tubos de ensaio de 13 x 100 mm esterilizados e cobria-se o meio de cultivo com parafina líquida espessa, de

modo a formar um tampão de aproximadamente 5 mm de altura. Os meios eram mantidos em geladeira a 4°C.

#### 3.2.1.11. Caldo Malonato

Extrato de levedura .....	1,0 g
Sulfato de amônio .....	2,0 g
Fosfato de dipotássico .....	0,6 g
Fosfato monopotássico.....	0,4 g
Cloreto de sódio.....	2,0 g
Malonato de sódio.....	3,0 g
Azul de bromotimol .....	0,025 g

Preparo: eram dissolvidos 10 gramas do meio desidratado em 1000 ml de água destilada. Deixava-se hidratar por 5 a 10 minutos e aquecia-se, agitando frequentemente até dissolver completamente. Ajustava-se o pH para 6,6 e distribuía-se volumes de 3 ml em tubos de ensaio de 13 x 100 mm. Esterilizava-se em autoclave a 115°C por 10 minutos. Após o resfriamento os meios eram mantidos em geladeira a 4°C.

#### 3.2.1.12. Ágar Mueller-Hinton

Infusão de carne .....	300,0 g
Caseína hidrolizada .....	17,5 g
Amido.....	1,5 g
Ágar .....	17,0 g

**Preparo:** eram dissolvidos 33,0 gramas do meio desidratado em 1000 ml de água destilada. Deixava-se hidratar por 5 a 10 minutos e aquecia-se até o ponto de ebulição agitando frequentemente até a completa dissolução. Ajustava-se o pH para 7,4 e esterilizava-se em autoclave a 121°C durante 15 minutos. Distribuía-se volumes de aproximadamente 20 ml em placas de Petri de 15 x 150 mm. Os meios eram mantidos a 4°C em geladeira.

#### 3.2.1.13. Meio de Lignières segundo BIER (1978)

Extrato de carne.....	5,0 g
Peptona .....	10,0 g
Cloreto de sódio.....	5,0 g
Gelatina.....	5,0 g
Ágar .....	8,0 g

pH: 7,4

**Preparo:** eram dissolvidos 33 gramas do meio desidratado em 1000 ml de água destilada. Deixava-se hidratar por 5 a 10 minutos e aquecia-se até o ponto de ebulição, agitando frequentemente até a completa dissolução. Esterilizava-se em autoclave a 121°C durante 15 minutos e distribuía-se volumes de aproximadamente 5 ml em frascos do tipo "penicilina", já previamente esterilizados. Os meios eram mantidos em geladeira a 4°C.

#### 3.2.1.14. Meio de Lisina Descarboxilase

Peptona especial .....	4,5 g
------------------------	-------

Peptona de soja.....	2,0 g
Extrato de levedura.....	3,0 g
D(+) Glicose.....	1,0 g
Cloreto de sódio.....	5,0 g
Tiosulfato de sódio.....	0,2 g
L-lisina mono-hidroclorato.....	10,0 g
Sulfato de ferro amoniacal.....	0,2 g
Púrpura de bromocresol.....	0,032 g
Ágar.....	6,0 g

**Preparo:** eram dissolvidos 32 gramas do meio em 1000 ml de água destilada. Deixava-se hidratar por 5 a 10 minutos e aquecia-se até o ponto de ebulição, agitando frequentemente até dissolver completamente. Ajustava-se o pH para 5,6 e distribuía-se volumes de 3 ml em tubos de ensaio de 13 x 100 mm cobrindo-se o meio com vaselina líquida espessa, de maneira a formar um tampão de aproximadamente 5 mm. Esterilizava-se em autoclave a 121°C por 15 minutos e resfriava-se os tubos na posição vertical para solidificar o ágar. Mantinha-se os meios em geladeira a 4°C.

### 3.2.1.15. Caldo Base de Ensaio de Ornítina Descarboxilase

Peptona de carne.....	5,0 g
Extrato de levedura.....	3,0 g
D(+) Glicose.....	1,0 g
Púrpura de bromocresol.....	0,016 g
Aditivo:	
L-Ornítina monoclórhidrato.....	5,0 g

Preparo: eram dissolvidos 9 gramas do meio desidratado em 1000 ml de água destilada. Deixava-se hidratar por 5 a 10 minutos e ajustava-se o pH em 6,8. Aquecia-se até o ponto de ebulição, agitando até a completa dissolução. A base era então dividida em duas porções iguais: numa adicionava-se L-ornitina monoclóridato a 0,5% enquanto a outra porção era utilizada como controle. O meio era distribuído em tubos de ensaio de 13 x 100 mm em volumes de 3 ml, adicionava-se vaselina estéril e autoclavava-se a 121°C por 10 minutos. Os meios eram mantidos a 4°C na geladeira.

#### 3.2.1.16. Caldo Base de Ensaio de Arginina Dehidrolase

Peptona de carne.....	5,0 g
Extrato de levedura .....	3,0 g
D(+) Glicose .....	1,0 g
Púrpura de bromocresol .....	0,016 g
Aditivo:	
L-arginina monoclóridato.....	5,0 g

Preparo: eram dissolvidos 9,0 gramas do meio desidratado em 1000 ml de água destilada. Deixava-se hidratar por 5 a 10 minutos e ajustava-se o pH em 6,8. Aquecia-se até o ponto de ebulição, agitando até a completa dissolução. Adicionava-se L-arginina monoclóridato a 0,5%. O meio era então distribuído em tubos de 13 x 100 mm em volumes de 3 ml, cobria-se com vaselina estéril e levava-se ao autoclave a 121°C por 10 minutos. Os meios eram mantidos a 4°C em geladeira.

## 3.2.1.17. Ágar Tartarato de Jordan

Peptona (Bacto ou Trypticase).....	10,0 g
Tartarato de sódio e potássio.....	10,0 g
Cloreto de sódio.....	5,0 g
Vermelho de fenol.....	0,024 g
Ágar .....	15,0 g
Água destilada .....	1000 ml

Preparo: os ingredientes citados acima eram dissolvidos nas devidas porções em 1000 ml de água destilada. Deixava-se hidratar por 5 a 10 minutos, aquecia-se agitando frequentemente até a completa dissolução. Após resfriar, ajustava-se o pH para 7,8 e acrescentava-se o corante. Distribuía-se o meio em tubos de ensaio de 18 x 150 mm, sob a forma de camada alta (entre 5 -10 ml) e esterilizava-se a 116°C por 20 minutos. Após a retirada do autoclave, os meios eram resfriados em posição vertical e mantidos a 4°C em geladeira.

## 3.2.1.18. Meio para Fermentação de Carboidratos - Dulcitol

Meio básico:

Peptona .....	10,0 g
Extrato de carne.....	3,0 g
Cloreto de sódio.....	5,0 g
Indicador de Andrade.....	10,0 ml
Água destilada .....	1000 ml
Aditivo:	
Dulcitol .....	5,0 g

**Preparo:** os ingredientes eram dissolvidos proporcionalmente em 1000 ml de água destilada, com a adição de dulcitol a 0,5 %. Deixava-se hidratar por 5 a 10 minutos, ajustava-se o pH para 7,1-7,2, aquecendo o meio até a completa dissolução. A partir daí, era distribuído em volumes de 3 a 5 ml em tubos de ensaio de 13 x 100 mm. Os meios eram então levados para a esterilização em autoclave a 121°C por 15 minutos. Após o resfriamento eram mantidos a 4°C em geladeira.

### 3.2.1.19. Meio para Fermentação de Carboidratos - Glicose

Meio básico:

Peptona .....	10,0 g
Extrato de carne.....	3,0 g
Cloreto de sódio.....	5,0 g
Indicador de Andrade.....	10,0 ml
Água destilada .....	1000 ml

Aditivo:

Glicose .....	10,0 g
---------------	--------

**Preparo:** dissolvido o caldo básico, acrescia-se a glicose a 1% ajustando o pH a 7,1-7,2 e aquecendo-o até a dissolução total. Distribua-se o meio em tubos de ensaio de 13 x 100 mm com tubos de Duhran, volumes de 3 a 5 ml. Esterilizava-se em autoclave a 121°C por 15 minutos. Após o resfriamento em posição vertical, os meios eram mantidos em geladeira a 4°C.

### 3.2.1.20. Caldo de Infusão Cérebro e Coração

Infusão de cérebro .....	12,5 g
Infusão de coração .....	5,0 g
Proteose peptona.....	10,0 g
Dextrose.....	2,0 g
Cloreto de sódio .....	5,0 g
Fosfato dissódico .....	2,5 g

**Preparo:** eram dissolvidos 37 gramas do meio desidratado em 1000ml de água destilada. Deixava-se hidratar por 5 a 10 minutos e aquecia-se até o ponto de ebulição, agitando frequentemente até a sua completa dissolução. Ajustava-se o pH para 7,4 e distribuía-se a solução em volumes de 10 ml em tubos de ensaio 16 x 150 mm. Esterilizava-se em autoclave a 121°C durante 15 minutos e após o resfriamento, os meios eram mantidos em geladeira a 4°C.

### 3.2.1.21. Indicador de Andrade

Fucsina ácida .....	0,5 g
Hidróxido de sódio .....	16,0 ml
Água destilada .....	100,0 ml

**Preparo:** dissolver a fucsina em água destilada e adicionar o hidróxido.

### 3.2.1.22. Reativo de Ehrlich para Prova do Indol segundo KONEMAN *et al.* (1983).

Paradimetila minobenzaldeido .....	1,0 g
Ácido clorídrico concentrado .....	40,0
Alcool etílico absoluto .....	190,0 ml

### 3.2.1.23. Anti-soro Polivalente "Salmonella O antiserum. Poly A" - DIFCO. Anti-soro específico "Antiserum Group D<sub>1</sub>" - DIFCO.

### 3.2.1.24. Soluções

Solução de Vermelho de Metila.

Solução Alfa Naftol 5%.

Solução Hidróxido de Potássio 40%.

## 3.3 METODOLOGIA UTILIZADA

### 3.3.1. Amostras Analisadas

As aves recebidas no Laboratório de Bacteriologia do Centro de Diagnóstico Marcos Enrietti eram necropsiadas segundo o "Guia de Necrópsia e Envio de Material para o Laboratório" (EMBRAPA, 1983). Eram colhidos fragmentos de órgãos (coração, pulmão, fígado, baço e intestino) para as análises bacteriológicas. Os fragmentos de órgãos recebidos eram submetidos às mesmas análises.

### 3.3.2. Plaqueamento

Os fragmentos dos órgãos, como coração, pulmão, fígado, baço e intestino eram inoculados diretamente nos meios de cultura. Fazia-se também um triturado destes órgãos, inoculando-os em caldo de enriquecimento.

Os espécimes eram semeados simultaneamente nos meios de cultura de ágar Sangue, ágar MacConkey e ágar Salmonella-Shigella, bem como no caldo de enriquecimento selenito e incubados a 37°C durante 24 a 48 horas.

Após este período de incubação, observava-se a presença ou não de colônias pequenas e/ou médias não fermentadoras da lactose nos meios de ágar MacConkey e ágar Salmonella-Shigella e colônias de semelhantes dimensões, de coloração acinzentada, não hemolíticas no ágar Sangue. Quando presentes, eram repicadas em meio para identificação presuntiva. Nos casos de ausência de colônias suspeitas, semeava-se a partir do caldo Selenito com auxílio de alça níquel-cromo nos meios de cultura de ágar MacConkey e ágar Salmonella-Shigella.

### 3.3.3. Identificação Bioquímica Presuntiva

As colônias suspeitas (não fermentadoras da lactose) eram inoculadas em tubos de Três Açúcares e Ferro (TSI) os quais eram incubados a 37°C por 24-48 horas.

Quando os tubos do meio TSI apresentavam reações bioquímicas compatíveis com as produzidas pelos organismos do gênero *Salmonella* tais como: superfície alcalina ou fermentação negativa da sacarose; fundo do tubo ácido ou fermentação positiva da glicose, com pouca ou nenhuma presença de gás e com produção variável de gás sulfídrico (H<sub>2</sub>S), as culturas eram então submetidas à prova da urease em caldo Uréia. Como controle positivo desta prova foi utilizado uma cepa de *Proteus mirabilis* e como controle negativo uma cepa de *E.coli*. A partir dos tubos que não apresentavam hidrólise

da uréia ou negativos, realizavam-se as provas bioquímicas complementares, segundo EDWARDS & EWING (1972).

#### 3.3.4. Identificação Bioquímica e Sorológica.

Para a realização da caracterização bioquímica e sorológica do gênero, foram realizadas as seguintes provas:

Prova do Indol;

Prova do Vermelho de Metila;

Prova de Voges-Proskauer;

Prova do Citrato;

Prova do Crescimento em Presença de KCN;

Prova do Malonato;

Prova da Descarboxilação da Lisina;

Prova da Motilidade;

Provas Sorológicas.

As provas acima citadas foram realizadas e interpretadas considerando-se os seguintes critérios:

**Prova do Indol:** Para a realização desta prova, era utilizado o meio de SIM ( $H_2S$ , Indol e Mobilidade). A partir do meio TSI, a cultura superficial era inoculada neste meio e incubada a  $37^\circ C$  por 24-48 horas. Após o período de incubação, adicionava-se em torno de 1 ml de clorofórmio sobre a superfície do meio. Após leve agitação do tubo, deixava-se alguns minutos em repouso e acrescentava-se 3 a 4 gotas do reativo de Ehrlich. O desenvolvimento da cor vermelha na interface do meio em até 5 minutos, era considerado como positivo para a prova do Indol,

ao passo que o não desenvolvimento desta cor, era considerado negativo (KONEMAN *et al.*, 1983). Como controle positivo, usou-se uma cepa de *E.coli* e como controle negativo uma cepa de *Klebsiella pneumoniae*.

**Prova do Vermelho de Metila (VM) e Voges-Proskauer (VP):** Para realizar estas provas utilizou-se o meio de Clark & Lubs. Com o auxílio de alça de níquel-cromo, as culturas eram semeadas em dois tubos, até os mesmos ficarem ligeiramente turvos e então incubados a 37°C por 24-48 horas.

**Interpretação da Prova do Vermelho de Metila (VM):** a um dos tubos semeados, adicionava-se 2 a 3 gotas do indicador de pH Vermelho de Metila; a reação era considerada positiva quando ocorria desenvolvimento de uma cor vermelha estável na superfície do meio (KONEMAN *et al.*, 1983). Como controle positivo utilizou-se uma cepa de *E.coli* e como controle negativo uma cepa de *Enterobacter sp.*

**Interpretação da Prova de Voges-Proskauer (VP):** ao outro tubo, adicionava-se 3 a 4 gotas de hidróxido de potássio a 40% seguido de alfa naftol a 5% (catalisador). Considerava-se positivo quando ocorria o desenvolvimento de cor vermelha e negativo quando apresentava mudança na coloração do caldo para amarelo (KONEMAN *et al.*, 1983). Como controle positivo utilizou-se uma cepa de *Klebsiella oxytoca* e como negativo uma cepa de *E.coli*.

**Prova do Citrato:** a cultura era semeada na superfície inclinada do meio ágar Citrato e incubada a 37°C durante 24-48 horas. Após este período, a prova era considerada positiva pelo desenvolvimento de coloração azul intensa e negativa quando não ocorria o surgimento desta cor (EDWARDS & EWING, 1972). Como controle positivo utilizou-se uma cepa de *Enterobacter sp* e como controle negativo uma cepa de *E.coli*.

**Prova do Crescimento em Presença de KCN:** para realizar esta prova, a cultura era inoculada em caldo de Infusão Cérebro e Coração (BHI) durante 24 horas a 37°C. Após este período, uma alçada do caldo com crescimento era inoculada no caldo KCN, o qual era incubado a 37°C durante 48 horas. A prova era considerada positiva quando havia crescimento no caldo, indicado pela turvação do meio e negativa quando este permanecia límpido (EDWARDS & EWING, 1972). Como controle positivo utilizou-se uma cepa de *Klebsiella oxytoca* e como controle negativo uma cepa de *E.coli*.

**Prova do Malonato:** para a realização desta prova, inoculava-se a cultura com o auxílio de uma alça níquel-cromo no caldo citado, incubando-a a 37°C durante 24-48 horas. Após transcorrido este período, observava-se se o meio de cultivo apresentava coloração azul, indicando que a prova era positiva e negativa quando o meio permanecia com a cor inicial, ou seja, vermelha (EDWARDS & EWING, 1972). Como controle positivo foi utilizado uma cepa de *Klebsiella oxytoca* e como controle negativo uma cepa de *Citrobacter sp.*

**Prova da Descarboxilação da Lisina:** nesta prova, eram utilizados dois tubos: o primeiro, considerado "tubo controle" contendo apenas o meio base sem lisina e o segundo o meio base com o aminoácido. As culturas eram inoculadas com o auxílio de agulha níquel-cromo. Incubava-se a 37°C durante 4 dias conforme EDWARDS & EWING (1972), com observações diárias. O desenvolvimento da cor amarela nos dois tubos inoculados, após o período de incubação, significava que a cultura era negativa para a prova da descarboxilação da lisina. Ao passo que, a presença da cor púrpura no tubo contendo o aminoácido indicava uma prova positiva, isto é, ocorria a liberação de aminas por descarboxilação

(KONEMAN *et al.*, 1983). Como controle positivo utilizou-se uma cepa de *E.coli* e como controle negativo, uma cepa de *Proteus mirabilis*.

**Prova da Motilidade:** nesta prova foi utilizado o meio de SIM, cujo objetivo era observar a motilidade do microrganismo e a capacidade de formação de gás sulfídrico (H<sub>2</sub>S). As culturas eram semeadas em profundidade, com o auxílio de agulha níquel-cromo até aproximadamente dois terços da altura do meio e incubadas a 37°C por 24-48 horas. Após o tempo de incubação, a prova era considerada negativa ou imóvel, quando apresentava crescimento bacteriano confinado a linha da picada e positiva ou móvel quando avistava-se crescimento bacteriano difuso. A formação positiva de H<sub>2</sub>S era exibida pelo enegrecimento à linha da picada ou em todo o meio de cultivo, o não surgimento de coloração escura era considerado como negativo para H<sub>2</sub>S (KONEMAN *et al.*, 1983). Como controle positivo utilizou-se uma cepa de *Proteus mirabilis* e como controle negativo uma cepa de *Klebsiella oxytoca*.

**Provas sorológicas:** quando as culturas apresentavam comportamento bioquímico compatível ao gênero *Salmonella sp* e prova da motilidade positiva, eram testadas com poli-soro "Salmonella O antiserum.Poly A" - (DIFCO), através de soro aglutinação rápida em placa. Com o auxílio de alça níquel-cromo, colocava-se uma a duas alçadas de água destilada na placa de aglutinação, em seguida adicionava-se uma alçada de cultura pura, homogeneizava-se, e então acrescentava-se 1 a 2 gotas do anti-soro. A reação era considerada positiva quando observava-se presença de grumos ou aglutinação dentro de aproximadamente 2 minutos, e negativa quando esta reação não era constatada. Estas cepas, uma vez identificadas sorologicamente como

pertencentes ao gênero citado, eram então estocadas em meio de Lignières a temperatura ambiente.

Por outro lado, as culturas que mostravam comportamento negativo na prova da motilidade ou imóveis (crescimento bacteriano somente ao longo do inóculo), eram testadas frente ao "Antiserum Group D<sub>1</sub>" - (DIFCO) em prova de soroaglutinação rápida em placa. Culturas consideradas como pertencentes ao grupo D<sub>1</sub>, eram submetidas as provas bioquímicas de diferenciação dos sorovares *S.pullorum* - *gallinarum* e estocadas em meio de Lignières a temperatura ambiente.

### 3.3.5. Diferenciação dos Sorovares *S.pullorum* e *S.gallinarum*

A partir das culturas que apresentavam resultados positivos frente ao anti-soro D<sub>1</sub>, realizava-se provas complementares de identificação bioquímica com o objetivo de distinguir ambos sorovares, preconizadas por EDWARDS & EWING (1972) e LE MINOR (1984), tais como:

Prova do Tartarato de Jordan;

Prova da Produção de Gás a partir da Glicose;

Prova do Dulcitol;

Prova da Descarboxilação da Ornitina;

Prova da Dehidrolização da Arginina.

As provas acima citadas eram realizadas e interpretadas considerando-se os seguintes critérios:

Prova do Tartarato de Jordan: para realizá-la, a cultura era inoculada com agulha de níquel-cromo 2 a 3 vezes, procurando atingir a maior profundidade possível do

meio. Após 24-48 horas de incubação a 37°C, as reações positivas eram caracterizadas pela acidificação total do meio, ou seja, tornando-o inteiramente amarelo. A prova era considerada negativa através da alcalinização do meio, isto é, presença de cor vermelha.

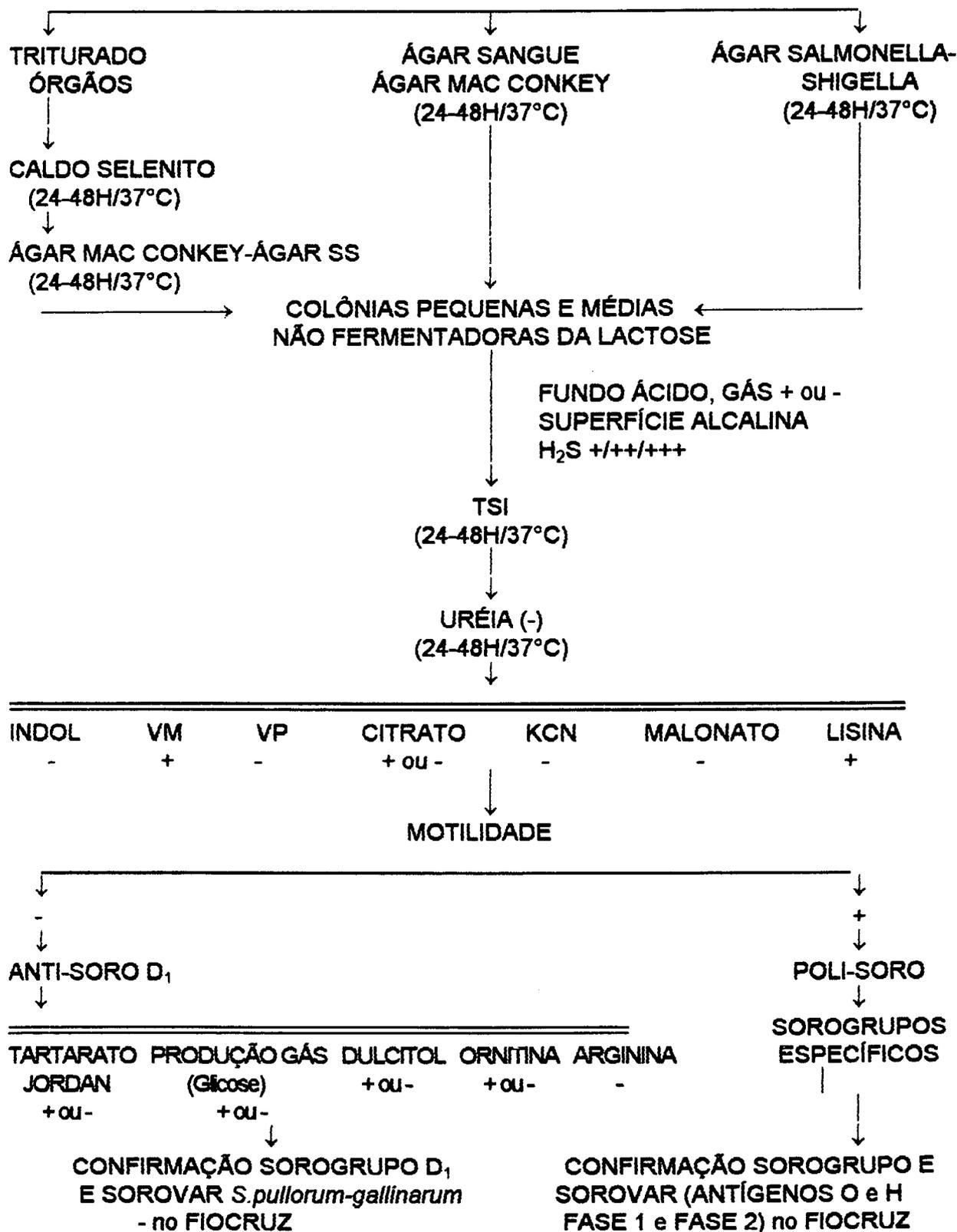
**Prova da Produção de Gás a partir da Glicose:** as culturas eram semeadas no caldo básico para fermentação de carboidratos com glicose a 1% e tubos de Duhran incubadas a 37°C por 24 a 48 horas. Após este período, caracterizava-se como prova positiva a formação de gás, ao passo que a não formação deste era considerada negativa.

**Prova do Dulcitol:** as culturas em estudo eram semeadas no caldo básico para fermentação de carboidratos com dulcitol a 0,5% e incubadas a 37°C por 24 a 48 horas. As provas eram consideradas positivas quando ocorria a viragem do indicador de Andrade para uma coloração avermelhada, e negativos aqueles que mantinham a cor inicial (incolor).

**Prova da descarboxilação da Ornitina e da Dehidrolização da Arginina:** para a realização destas provas, eram utilizados um "tubo controle" contendo somente o meio base, um tubo com o meio base e a ornitina e outro com o meio base e a arginina. As culturas eram semeadas com o auxílio de agulha níquel-cromo e incubadas a 37°C durante 4 dias, observando-as diariamente. O desenvolvimento da cor amarela nos meios de ornitina e arginina após a incubação significava que as culturas eram negativas. Enquanto o surgimento da cor amarela no "tubo controle" indicava que o microrganismo era viável, por outro lado o retorno da cor púrpura nos meios contendo os aminoácidos indicavam uma prova positiva.

Metodologia Utilizada para o Isolamento e Identificação de *Salmonella* sp

FRAGMENTOS DE ÓRGÃOS: (coração , pulmão, fígado, baço, conteúdo intestinal).



### 3.3.6. Sensibilidade e Resistência aos Antibióticos e Quimioterápicos

As cepas isoladas eram submetidas a testes de sensibilidade através do Método de Difusão em Ágar, segundo a técnica do disco único de BAUER *et al.* (1966).

Utilizaram-se discos da marca Laborclin, cujo controle de qualidade foi realizado com a cepa padrão de *E.coli* ATCC 25922 com os seguintes princípios ativos e concentrações:

Amicacina.....	(30 µg)
Ampicilina .....	(10 µg)
Cefalotina .....	(30 µg)
Cloranfenicol .....	(30 µg)
Colistina.....	(10 µg)
Estreptomicina.....	(10 µg)
Gentamicina .....	(10 µg)
Nitrofurantoína.....	(300 µg)
Novobiocina.....	(30 µg)
Polimixina-B.....	(300 µg)
Sulfonamidas.....	(300 µg)
Sulfa-trimetoprim .....	(25 µg)
Tetraciclina .....	(30 µg)
Flumequina.....	(30 µg)
Kanamicina.....	(30 µg)
Neomicina .....	(30 µg)

### 3.3.7. Manutenção das amostras

As amostras identificadas através das provas bioquímicas eram mantidas em frascos tipo "penicilina", contendo meio de Lignières (BIER, 1978), vedados com tampa de borracha e devidamente lacrados.

### 3.3.8. Confirmação Bioquímica e Caracterização Sorológica Definitiva das Amostras

As amostras de *Salmonella sp* móveis e imóveis, eram semeadas a partir do meio de manutenção de Lignières em tubos de ensaio, contendo ágar Mueller-Hinton inclinado e transportados até o Laboratório de Enterobactérias do Instituto Oswaldo Cruz (Rio de Janeiro), para a identificação sorológica e bioquímica dos sorogrupos e sorovares. A caracterização bioquímica e as determinações antigênicas das cepas foram realizadas segundo as especificações apresentadas por EDWARDS & EWING (1972) e LE MINOR (1984).

### 3.3.9. Frequência dos Surtos Aviários Causados por *Salmonella sp* nos Meses do Ano.

A salmonelose, conforme MORSE & DUNCAN (1974) ocorre mais frequentemente nas estações quentes do ano. Para verificar se tal frequência também acontece no Estado do Paraná, foram anotados os meses e as estações do ano em que ocorreram os surtos aviários positivos para *Salmonella sp*. Para tanto, considerou-se como verão os meses de janeiro, fevereiro e março; outono, os meses de abril, maio e junho; inverno, os meses de julho, agosto e setembro; e primavera, os meses de outubro, novembro e dezembro.

**3.3.10. Prováveis Morbidades, Mortalidades e Letalidades Aviárias Atribuídas a Infecção pelos Sorovares *S.pullorum*, *S.gallinarum* e *S.enteritidis*.**

Foram observadas as taxas percentuais referentes as morbidades, mortalidades e letalidades aviárias verificadas nos surtos que afetaram as aves, com resultados bacteriológicos positivos para *S.pullorum*, *S. gallinarum* e *S.enteritidis*.

A população avícola de cada propriedade com criação caseira foi dividida em quatro faixas etárias distintas. Considerou-se como pintinhos, as aves que tinham idades entre 1 dia a 1 semana; aves jovens, as aves com 1 a 2 semanas de idade; aves jovens adultas de 2 até 8 semanas de idade e aves adultas àquelas com idades superiores a 8 semanas.

Os dados obtidos foram analisados, segundo tabelas de contingência, onde através do teste do qui-quadrado ( $\chi^2$ ) ao nível de 5% de significância procurou-se determinar a existência ou não da associação entre as variáveis, segundo SPIEGEL (1979).

## 4. RESULTADOS

### 4.1. PARTICIPAÇÃO DE *Salmonella sp* NOS SURTOS OCORRIDOS NOS ANOS DE 1987 A 1991.

Na Tabela 1 e Figura 1 é apresentado o número de amostras de aves examinadas ano a ano, bem como os totais acumulados dos anos de 1987 a 1991 e as respectivas percentagens de casos com isolamento de *Salmonella sp*.

Pelos dados da Tabela observa-se que do total de 671 amostras analisadas, 47 (7,0%) delas mostraram-se positivas para *Salmonella sp*, enquanto as 624 (93,0%) restantes apresentaram-se negativas, das quais isolou-se outros microrganismos participantes ou não de surtos, vistos na Tabela 2.

Os resultados das provas bioquímicas complementares entre as amostras estudadas foram compatíveis com o comportamento dos microrganismos do gênero *Salmonella sp*, apresentando reações positivas nos seguintes testes ou substratos: vermelho de metila, citrato, lisina descarboxilase e negativo nos seguintes: indol, Voges-Proskauer, cianeto de potássio (KCN), malonato e motilidade (maioria das amostras), salientando-se que nesta prova duas cepas mostraram-se positivas.

Nas provas para a diferenciação dos sorovares considerados imóveis, todas as amostras apresentaram-se positivas frente ao tartarato de Jordan, glicose (gás) e negativas para a arginina desidrolase. As cepas de *S.pullorum* e *S.gallinarum* exibiram comportamento bioquímico distinto diante das provas do dulcitol e da ornitina descarboxilase, enquadrando-se como *S.pullorum* quando positivas para a ornitina e negativas para o dulcitol, enquanto a *S.gallinarum* mostrou resultado inverso.

No ano de 1987, observou-se que das 199 amostras analisadas, 15 (7,54%) eram positivas para *Salmonella sp*, enquanto as 184 (92,46%) restantes apresentaram-se negativas (Figura 2).

Já no ano seguinte, 1988, foram recebidas 164 amostras de aves para diagnóstico bacteriológico, entre as quais verificou-se que 11 (6,70%) mostraram-se positivas para *Salmonella sp*, ao passo que as 153 (93,30%) restantes eram negativas (Figura 4).

Em 1989, do total de 108 amostras examinadas, 9 (8,33%) apresentaram-se positivas para *Salmonella sp*, enquanto 99 (91,67%) eram negativas (Figura 6).

Durante 1990 verificou-se que das 75 amostras analisadas, 6 (8,0%) eram positivas para o citado microrganismo, entretanto, as 69 (92,0%) restantes mostraram-se negativas (Figura 8).

Quanto ao ano de 1991, observou-se que do total de 125 amostras examinadas, 6 (4,8%) apresentaram-se positivas, enquanto 119 (95,2%) delas eram negativas (Figura 10).

#### 4.2. IDENTIFICAÇÃO DOS SOROVARES DE *Salmonella sp* ENVOLVIDOS NOS SURTOS.

Quanto às provas sorológicas, verificou-se que as 47 cepas estudadas eram pertencentes ao sorogrupo D<sub>1</sub>, da classificação de EDWARDS & EWING (1972).

A Tabela 3 e Figura 3 mostram o resultado das tipificações das cepas isoladas no ano de 1987, bem como o percentual dos sorovares mais freqüentes. Observou-se a presença de 13 (86,6%) isolamentos de *S.gallinarum*, 1 (6,6%) de *S.pullorum* e 1 (6,6%) de *S.enteritidis*.

Na Tabela 4 e Figura 5 observa-se o resultado das cepas identificadas durante 1988, assim como o percentual dos sorovares mais incidentes. Com a participação de 7

(63,6%) amostras de *S.gallinarum*, 3 (27,2%) de *S.pullorum*, salientando-se que também neste ano isolou-se 1 (9,1%) cepa de *S.enteritidis*.

A Tabela 5 e Figura 7 demonstram o resultado das cepas e sorovares de maior ocorrência durante 1989, onde verificou-se 8 (88,8%) isolamentos de *S.gallinarum* e 1 (11,1%) de *S.pullorum*.

A Tabela 6 e Figura 9 apresentam o resultado das identificações dos isolamentos e o percentual do sorovar mais comum ocorrido no ano de 1990. Observou-se que todas as 6 cepas isoladas eram do sorovar *S.gallinarum*.

Na Tabela 7 e Figura 11, verifica-se o resultado dos isolamentos ocorridos no ano de 1991, assim como o percentual dos sorovares mais incidentes. Dos quais 5 (83,3%) foram de *S.gallinarum* e 1 (16,6%) de *S.pullorum*.

Na Figura 12, observa-se que o sorovar de maior incidência dos surtos ocorridos no período de 1987 a 1991 foi *S.gallinarum*, com 39 isolamentos, totalizando 82,9% das cepas, seguido da *S.pullorum* com 6 isolamentos, com percentual de 12,7% e *S.enteritidis* com apenas 2 isolamentos, contribuindo com 4,2% das cepas.

#### 4.3. PROVAS DE SENSIBILIDADE A ANTIBIÓTICOS E QUIMIOTERÁPICOS

Na Tabela 8, são apresentadas as características de sensibilidade "in vitro" dos 39 sorovares de *S.gallinarum* isolados das amostras estudadas. Pode-se notar que todas elas mostraram o mesmo perfil de sensibilidade e resistência aos antibióticos e quimioterápicos, ou seja, sensibilidade à amicacina, ampicilina, cefalotina, cloranfenicol, colistina, estreptomicina, gentamicina, poliximina-B, sulfa-trimetoprim, tetraciclina, flumequina, kanamicina e neomicina. Intermediário a nitrofurantoina e resistência a novobiocina e sulfonamidas.

Quanto à *S.pullorum*, verifica-se na Tabela 9 que este sorovar apresentou quase que a mesma sensibilidade e resistência à *S.gallinarum*, diferenciando-se em relação a nitrofurantoina, que foi sensível.

Por outro lado, o perfil de sensibilidade e resistência dos 2 sorovares de *S.enteritidis* isolados mostraram-se idênticos à *S.gallinarum* (Tabela 10).

#### 4.4. ISOLAMENTO DE *Salmonella sp* E SUA OCORRÊNCIA NOS MESES DO ANO

Na Tabela 11 é apresentado o número de surtos provocados por *Salmonella sp* no período de 1987 a 1991, distribuídos durante os meses do ano. Verificou-se, durante o ano de 1987, 15 surtos com isolamentos positivos para o microrganismo em 8 meses do ano; em 1988, 11 surtos ocorreram em 6 meses; 1989, 9 surtos com isolamentos positivos aconteceram em 8 meses do ano; já em 1990 e 1991, 6 surtos acometeram as aves, isolando-se *Salmonella sp* dos mesmos em 5 e 6 meses do ano, respectivamente.

Distribuídos os 47 surtos de salmonelose aviária no período de 1987 a 1991 nas suas respectivas estações de ocorrência, verifica-se na Figura 13 que os mesmos abrangeram as quatro estações do ano, das quais a primavera com 15 (31,9%) surtos, apresentou a maior incidência ocorrida no período da pesquisa, seguida do outono com 12 (25,5%), verão com 11 (23,4%) e inverno com 9 (19,1%) surtos.

#### 4.5. MORBIDADES, MORTALIDADES E LETALIDADES AVIÁRIAS ATRIBUÍDAS À INFECÇÃO CAUSADA PELA *S.pullorum*, *S.gallinarum* E *S.enteritidis* EM CRIAÇÕES CASEIRAS NO ESTADO DO PARANÁ, DURANTE OS ANOS DE 1987 A 1991.

Quanto à morbidade, mortalidade e letalidade nas criações caseiras afetadas e localizadas em 33 municípios do Estado (Tabela 12, Figura 14) no período da pesquisa,

observa-se na Tabela 13 e Figura 15, em relação à *S.pullorum*, que a faixa etária considerada como pintinhos e aves jovens não foi afetada. Por outro lado, entre as aves com idades de 2 a 8 semanas (jovens adultas) e acima de 8 semanas (adultas), a taxa de morbidade e mortalidade média situou-se em 3,2% e 26,9%; 3,2% e 24,8%, respectivamente. Apresentou ainda uma taxa de letalidade de 93,3%.

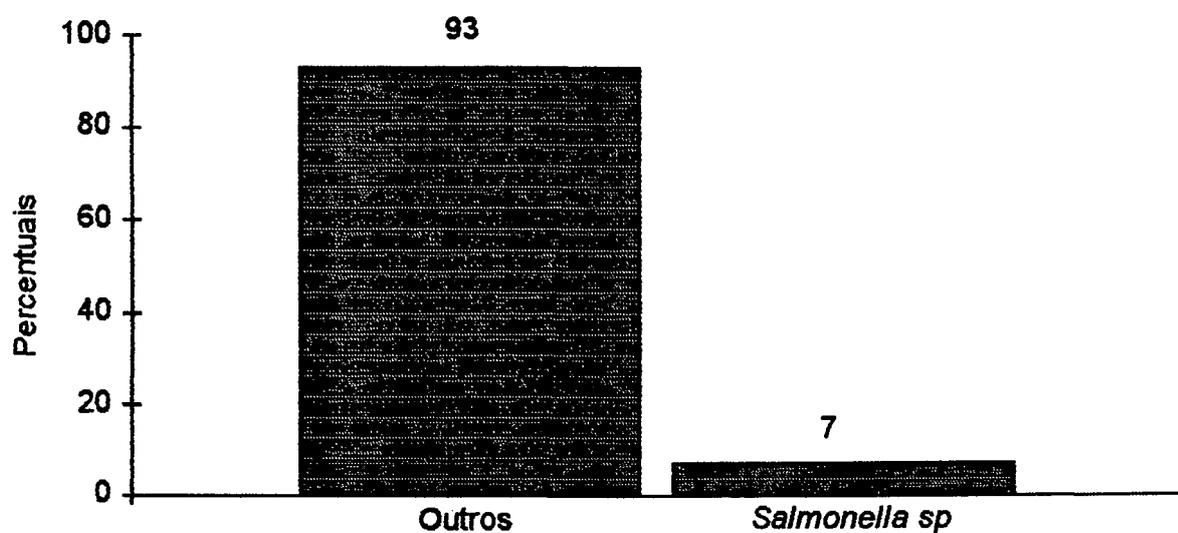
Na Tabela 14 e Figura 16, verifica-se que a *S.gallinarum* também não atingiu as faixas etárias das aves consideradas pintinhos e jovens, não havendo, portanto, índices de morbidade e mortalidade. Entretanto, na faixa etária das aves com 2 a 8 semanas e superiores a 8 semanas as médias vistas foram de 17,8% e 34,3% para morbidade e 17,3% e 33,6% para mortalidade, com 97,9% de taxa de letalidade.

Em relação a *S.enteritidis*, conforme mostra a Tabela 15 e Figura 17, apenas a faixa etária considerada como aves adultas apresentou taxas médias de 23,8% e 22,6%, para a morbidade e mortalidade, respectivamente. A taxa de letalidade exibida foi de 95%.

Comprovou-se estatisticamente que houve significância entre os isolamentos de *S.pullorum*, *S.gallinarum* e *S.enteritidis* quanto à morbidade e mortalidade ocorridas entre as aves com idades de 2 a 8 semanas e aquelas com idades superiores a 8 semanas.

**TABELA 1 - TOTAL DE AMOSTRAS, NÚMERO E PERCENTAGEM DE SURTOS POSITIVOS PARA *Salmonella sp.***

	AMOSTRAS		
	Nº	POSITIVAS	
		Nº	%
1987	199	15	7,54
1988	164	11	6,70
1989	108	09	8,33
1990	75	06	8,00
1991	125	06	4,80
<b>TOTAL</b>	<b>671</b>	<b>47</b>	<b>7,00</b>



**FIGURA 1 - PERCENTUAL ACUMULADO DOS SURTOS CAUSADOS POR *Salmonella sp* NO PERÍODO DE 1987 A 1991.**

TABELA 2 - PRINCIPAIS MICRORGANISMOS BACTERIANOS ISOLADOS DAS AVES (CARÇAÇAS, ÓRGÃOS), PARTICIPANDO OU NÃO DOS SURTOS.

MICRORGANISMO	Nº DE AMOSTRAS	%
<i>Escherichia coli</i>	202	30,0
<i>Streptococcus sp</i>	52	7,7
<i>Salmonella sp</i>	47	7,0
<i>Proteus sp</i>	46	6,8
<i>Staphylococcus sp</i>	34	5,0
<i>Klebsiella sp</i>	29	4,3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13	1,9
<i>Pasteurella multocida</i>	12	1,8
<i>Enterobacter sp</i>	11	1,6
<i>Pseudomonas sp</i>	5	0,7
<i>Bacillus sp</i>	5	0,7
<i>Corynebacterium sp</i>	3	0,4
<i>Aspergillus fumigatus</i>	3	0,4
<i>Citrobacter sp</i>	2	0,3
<i>Micrococcus sp</i>	1	0,1
<i>Edwardsiella tarda</i>	1	0,1
<i>Haemophilus sp</i>		

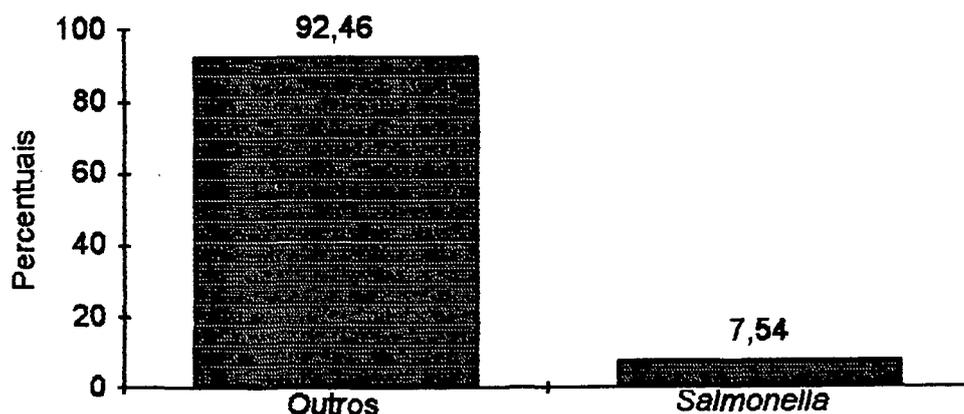


FIGURA 2 - PERCENTUAL DOS SURTOS CAUSADOS POR *Salmonella sp* NO ANO DE 1987.

TABELA 3 - RESULTADOS DAS TIPIFICAÇÕES DAS 15 CEPAS DE *Salmonella* sp ISOLADAS DURANTE O ANO DE 1987.

NÚMERO ORIGINAL *	SOROGRUPO	RESULTADO
18	D 1	<i>S.gallinarum</i>
139	D 1	<i>S.gallinarum</i>
214	D 1	<i>S.gallinarum</i>
227	D 1	<i>S.gallinarum</i>
243	D 1	<i>S.gallinarum</i>
252	D 1	<i>S.gallinarum</i>
339	D 1	<i>S.pullorum</i>
632	D 1	<i>S.gallinarum</i>
815	D 1	<i>S.gallinarum</i>
830	D 1	<i>S.enteritidis</i>
858	D 1	<i>S.gallinarum</i>
899	D 1	<i>S.gallinarum</i>
925	D 1	<i>S.gallinarum</i>
1016	D 1	<i>S.gallinarum</i>
1076	D 1	<i>S.gallinarum</i>

\* Número de Protocolo do Livro de Registro da Seção de Bacteriologia do C.D.M.E.

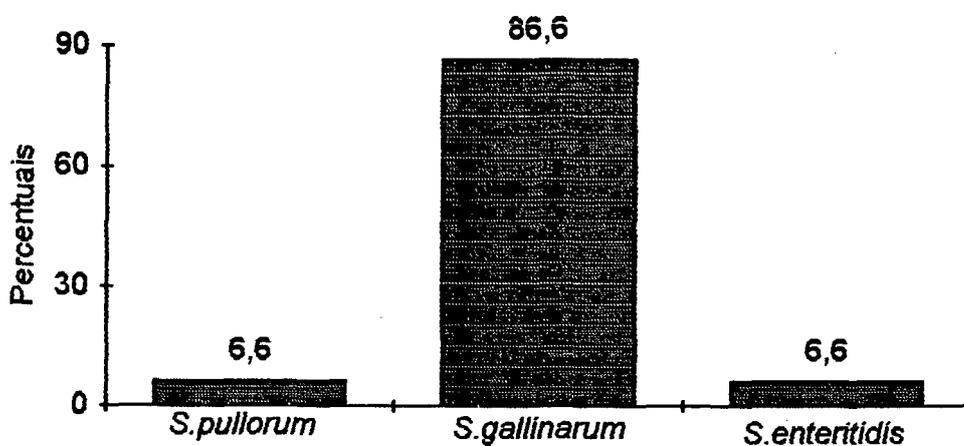


FIGURA 3 - PERCENTUAL DOS SOROVARES DE *Salmonella* sp ISOLADOS DOS SURTOS OCORRIDOS DURANTE O ANO DE 1987.

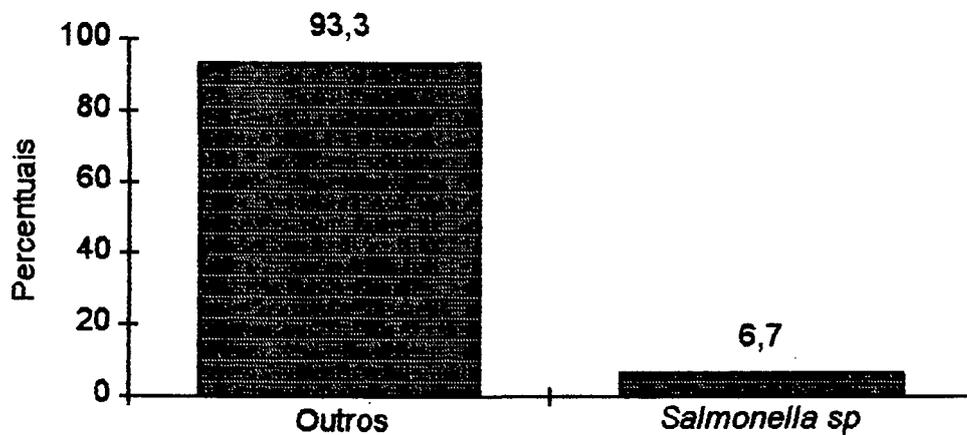


FIGURA 4 - PERCENTUAL DOS SURTOS CAUSADOS POR *Salmonella sp* NO ANO DE 1988.

TABELA 4 - RESULTADOS DAS TIPICAÇÕES DAS 11 CEPAS DE *Salmonella sp* ISOLADAS DURANTE O ANO DE 1988.

NÚMERO ORIGINAL *	SOROGRUPO	RESULTADO
171	D 1	<i>S. enteritidis</i>
312	D 1	<i>S. gallinarum</i>
457	D 1	<i>S. gallinarum</i>
641	D 1	<i>S. gallinarum</i>
748	D 1	<i>S. gallinarum</i>
904	D 1	<i>S. gallinarum</i>
914	D 1	<i>S. gallinarum</i>
928	D 1	<i>S. pullorum</i>
1044	D 1	<i>S. pullorum</i>
1055	D 1	<i>S. pullorum</i>
1061	D 1	<i>S. gallinarum</i>

\* Número de Protocolo do Livro de Registro da Seção de Bacteriologia do C.D.M.E.

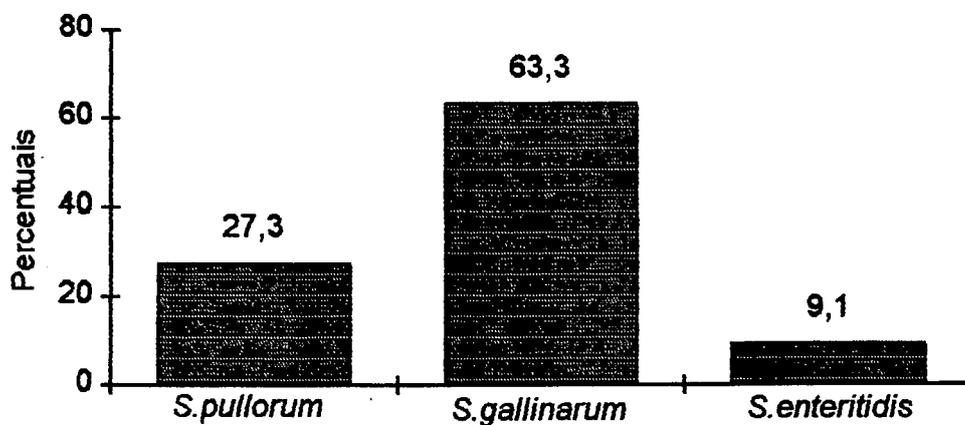


FIGURA 5 - PERCENTUAL DOS SOROVARES DE *Salmonella sp* ISOLADOS DOS SURTOS OCORRIDOS DURANTE O ANO DE 1988.

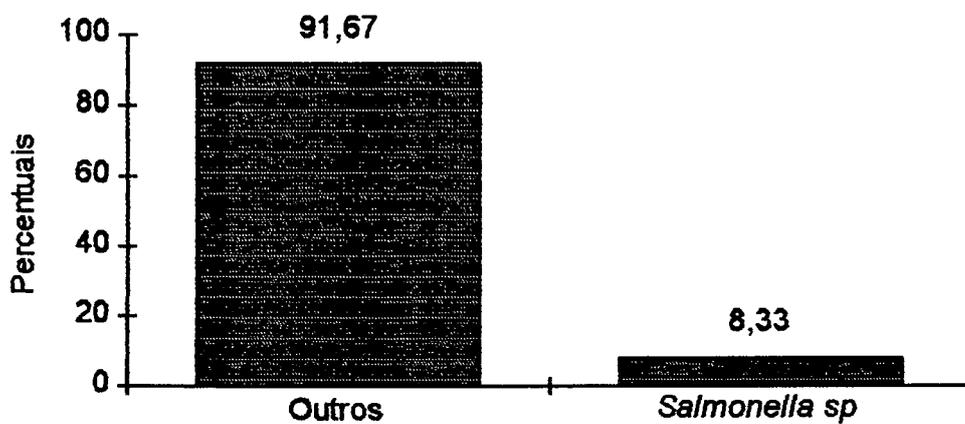


FIGURA 6 - PERCENTUAL DOS SURTOS CAUSADOS POR *Salmonella sp* NO ANO DE 1989.

TABELA 5 - RESULTADOS DAS 09 CEPAS DE *Salmonella sp* ISOLADAS DURANTE O ANO DE 1989.

NÚMERO ORIGINAL *	SOROGRUPO	RESULTADO
06	D 1	<i>S.gallinarum</i>
89	D 1	<i>S.gallinarum</i>
104	D 1	<i>S.gallinarum</i>
235	D 1	<i>S.gallinarum</i>
399	D 1	<i>S.pullorum</i>
473	D 1	<i>S.gallinarum</i>
640	D 1	<i>S.gallinarum</i>
751	D 1	<i>S.gallinarum</i>
871	D 1	<i>S.gallinarum</i>

\* Número de Protocolo do Livro de Registro da Seção de Bacteriologia do C.D.M.E.

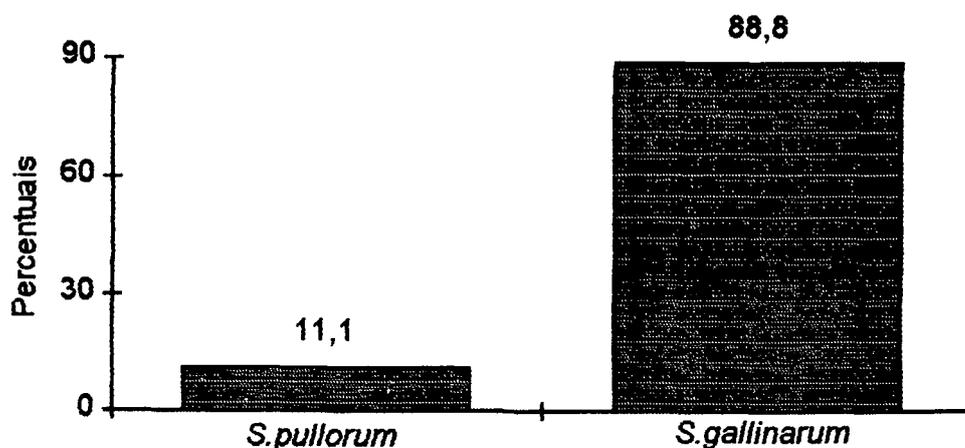


FIGURA 7 - PERCENTUAL DOS SOROVARES DE *Salmonella sp* ISOLADOS DOS SURTOS OCORRIDOS DURANTE O ANO DE 1989.

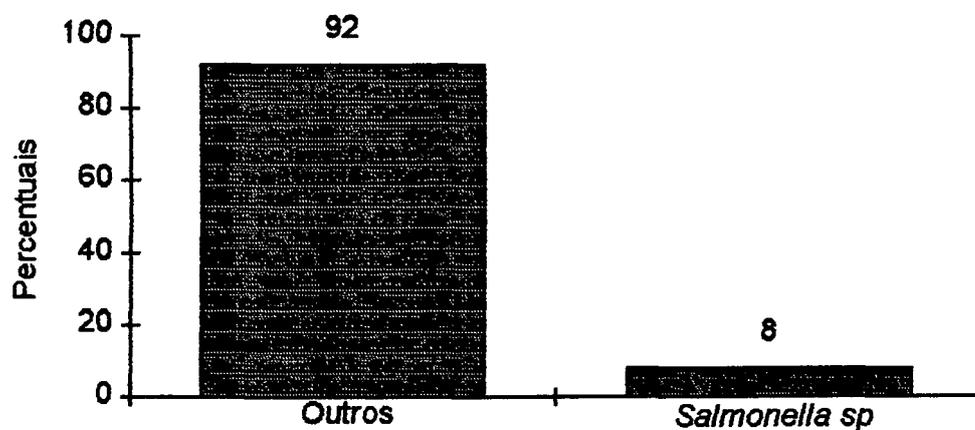


FIGURA 8 - PERCENTUAL DOS SURTOS CAUSADOS POR *Salmonella sp* NO ANO DE 1990.

TABELA 6 - RESULTADO DAS TIPIFICAÇÕES DAS 06 CEPAS DE *Salmonella sp* ISOLADAS DURANTE O ANO DE 1990.

NÚMERO ORIGINAL *	SOROGRUPO	RESULTADO
196	D 1	<i>S.gallinarum</i>
225	D 1	<i>S.gallinarum</i>
334	D 1	<i>S.gallinarum</i>
573	D 1	<i>S.gallinarum</i>
604	D 1	<i>S.gallinarum</i>
672	D 1	<i>S.gallinarum</i>

\* Número de Protocolo do Livro de Registro da Seção de Bacteriologia do C.D.M.E.

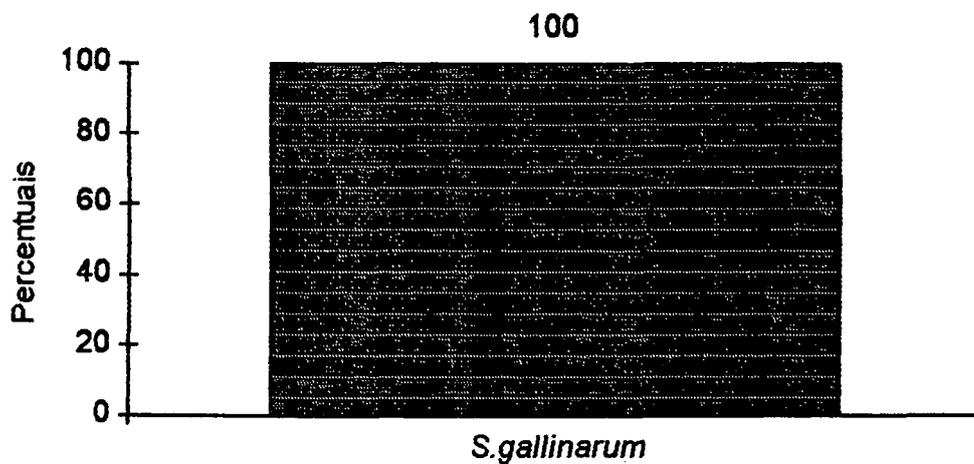


FIGURA 9 - PERCENTUAL DOS SOROVARES DE *Salmonella sp* ISOLADOS DOS SURTOS OCORRIDOS DURANTE O ANO DE 1990.

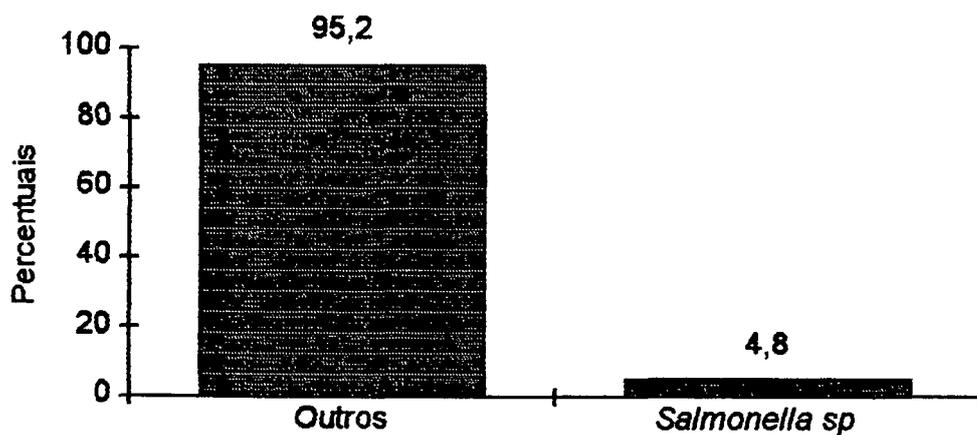


FIGURA 10 - PERCENTUAL DOS SURTOS CAUSADOS POR *Salmonella sp* NO ANO DE 1991.

TABELA 7 - RESULTADO DAS TIPIFICAÇÕES DAS 06 CEPAS DE *Salmonella* sp ISOLADAS DURANTE O ANO DE 1991.

NÚMERO ORIGINAL *	SOROGRUPO	RESULTADO
71	D 1	<i>S.gallinarum</i>
106	D 1	<i>S.gallinarum</i>
123	D 1	<i>S.gallinarum</i>
184	D 1	<i>S.pullorum</i>
226	D 1	<i>S.gallinarum</i>
711	D 1	<i>S.gallinarum</i>

\* Número de Protocolo do Livro de Registro da Seção de Bacteriologia do C.D.M.E.

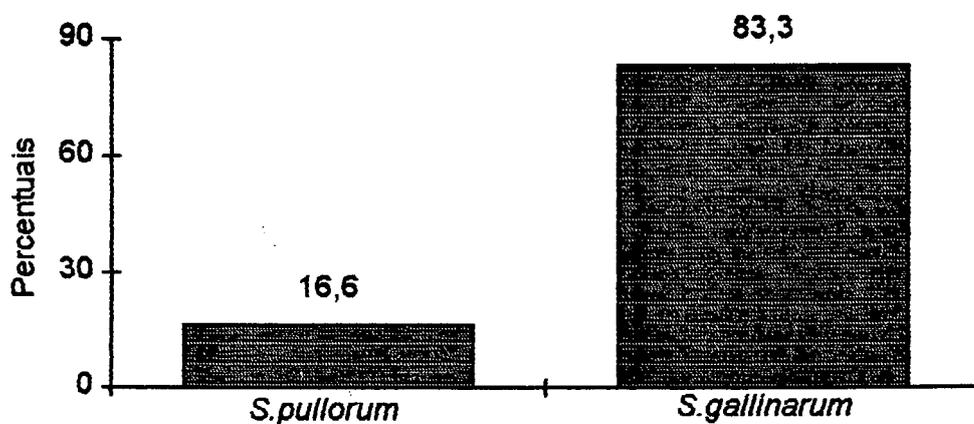


FIGURA 11 - PERCENTUAL DOS SOROVARES DE *Salmonella* sp ISOLADOS DOS SURTOS OCORRIDOS DURANTE O ANO DE 1991.

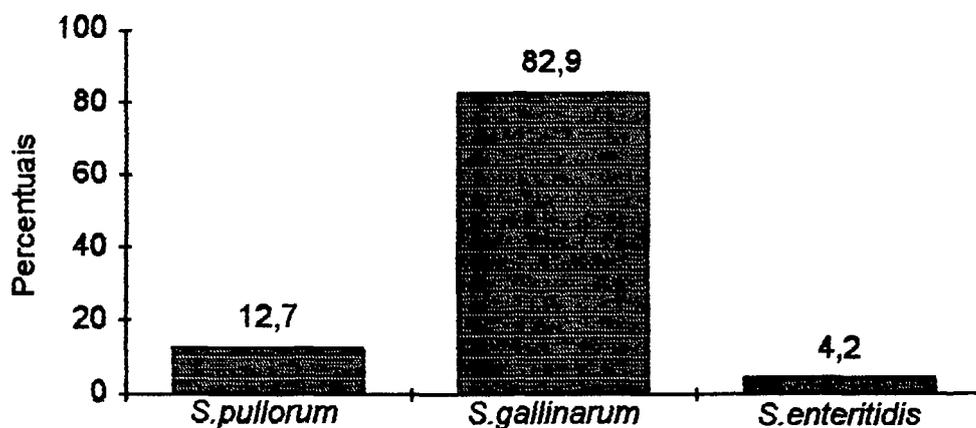


FIGURA 12 - PERCENTUAIS ACUMULADOS DOS SOROVARES DE *Salmonella sp* ISOLADOS DOS SURTOS DURANTE 1987 A 1991.

TABELA 8 - CARACTERÍSTICAS DE SENSIBILIDADE E RESISTÊNCIA "IN VITRO" DOS 39 SOROVARES DE *Salmonella gallinarum*.

PRODUTO UTILIZADO	MÉDIA DOS HALOS DE INIBIÇÃO (mm)	SENSÍVEL A PARTIR DE (mm)	RESULTADO CONSIDERADO
Amicacina	27	18	S
Ampicilina	21	14	S
Cefalotina	22	18	S
Cloranfenicol	24	18	S
Colistina	12	11	S
Estreptomicina	19	15	S
Gentamicina	29	13	S
Nitrofurantoina	15	17	I
Novobiocina	-	22	R
Polimixina	15	12	S
Sulfonamidas	-	17	R
Sulfa-trimetoprim	30	16	S
Tetraciclina	19	19	S
Flumequina	25	25	S
Kanamicina	25	18	S
Neomicina	23	17	S

SÍMBOLOS: S = Sensível; R = Resistente; I = Intermediário.

**TABELA 9 - CARACTERÍSTICAS DE SENSIBILIDADE E RESISTÊNCIA "IN VITRO" DOS 06 SOROVARES DE *Salmonella pullorum*.**

PRODUTO UTILIZADO	MÉDIA DOS HALOS DE INIBIÇÃO (mm)	SENSÍVEL A PARTIR DE (mm)	RESULTADO CONSIDERADO
Amicacina	27	18	S
Ampicilina	21	14	S
Cefalotina	22	18	S
Cloranfenicol	27	18	S
Colistina	13	11	S
Estreptomicina	16	15	S
Gentamicina	27	13	S
Nitrofurantoina	17	17	S
Novobiocina	-	22	R
Polimixina	14	12	S
Sulfonamidas	-	17	R
Sulfa-trimetoprim	31	16	S
Tetraciclina	19	19	S
Flumequina	26	25	S
Kanamicina	23	18	S
Neomicina	21	17	S

SÍMBOLOS: S = Sensível; R = Resistente.

**TABELA 10 - CARACTERÍSTICAS DE SENSIBILIDADE E RESISTÊNCIA "IN VITRO" DOS 02 SOROVARES DE *Salmonella enteritidis*.**

PRODUTO UTILIZADO	MÉDIA DOS HALOS DE INIBIÇÃO (mm)	SENSÍVEL A PARTIR DE (mm)	RESULTADO CONSIDERADO
Amicacina	23	18	S
Ampicilina	24	14	S
Cefalotina	21	18	S
Cloranfenicol	27	18	S
Colistina	11	11	S
Estreptomicina	17	15	S
Gentamicina	25	13	S
Nitrofurantoina	16	17	I
Novobiocina	-	22	R
Polimixina	13	12	S
Sulfonamidas	-	17	R
Sulfa-trimetoprim	29	16	S
Tetraciclina	22	19	S
Flumequina	29	25	S
Kanamicina	21	18	S
Neomicina	21	17	S

SÍMBOLOS: S = Sensível; R = Resistente; I = Intermediário.

TABELA 11 - DISTRIBUIÇÃO MENSAL DOS SURTOS CAUSADOS POR *Salmonella* DURANTE O PERÍODO DE 1987 A 1991.

MESES	ANO DA OCORRÊNCIA					TOTAIS
	1987	1988	1989	1990	1991	
JAN	01	-	01	-	-	02
FEV	-	-	02	-	01	03
MAR	03	01	-	-	02	06
ABR	02	01	01	01	01	06
MAI	01	-	01	01	01	04
JUN	-	01	01	-	-	02
JUL	-	-	-	01	-	01
AGO	01	02	01	-	-	04
SET	03	-	01	-	-	04
OUT	02	03	-	02	-	07
NOV	02	-	-	01	01	04
DEZ	-	03	01	-	-	04
ACUMULADO						
ANO	15	11	09	06	06	47

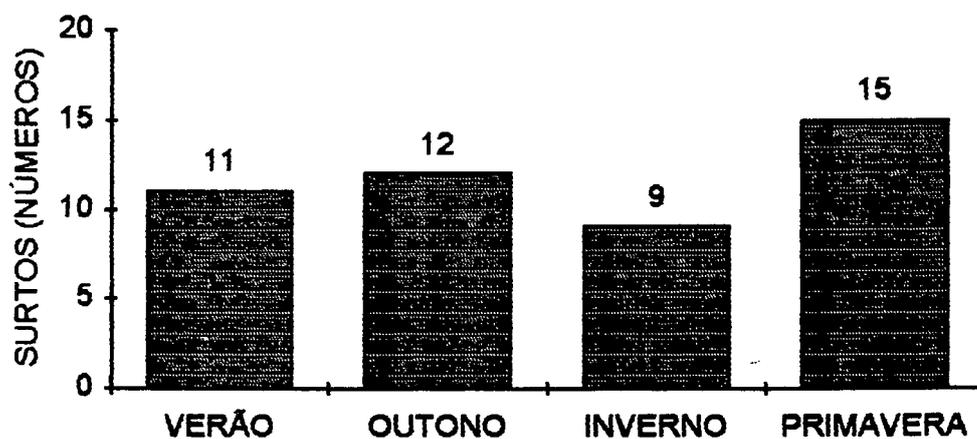


FIGURA 13 - DISTRIBUIÇÃO DOS SURTOS DE SALMONELOSE AVIÁRIA EM RELAÇÃO AS ESTAÇÕES DO ANO.

TABELA 12 - RELAÇÃO DOS 33 MUNICÍPIOS DO ESTADO DO PARANÁ QUE APRESENTARAM ISOLAMENTOS POSITIVOS PARA *Salmonella sp* E O NÚMERO DE SURTOS POR MUNICÍPIOS NOS ANOS DE 1987 A 1991.

NÚMERO	MUNICÍPIO	NÚMERO DE SURTOS
1	Araucária	3
2	Barracão	1
3	Campina Grande do Sul	1
4	Campo Largo	3
5	Castro	1
6	Colombo	3
7	Clevelândia	2
8	Curitiba	1
9	Dois Vizinhos	1
10	Faxinal	1
11	Francisco Beltrão	2
12	Guarapuava	2
13	Irati	2
14	Jaguariaíva	1
15	Juranda	1
16	Lapa	1
17	Maringá	1
18	Nova Santa Rosa	1
19	Paula Freitas	2
20	Paulo Frontin	1
21	Piraquara	1
22	Pitanga	1
23	Salgado Filho	1
24	Salto do Lontra	1
25	São Jorge d'Oeste	1
26	São João	1
27	São José dos Pinhais	3
28	São Mateus do Sul	1
29	Sengés	1
30	Siqueira Campos	1
31	Tibagi	1
32	Tijucas do Sul	1
33	União da Vitória	2
<b>TOTAL</b>		<b>47</b>



FIGURA 14 - LOCALIZAÇÃO GEOGRÁFICA DOS 33 MUNICÍPIOS DO ESTADO DO PARANÁ QUE APRESENTARAM SURTOS POSITIVOS PARA *Salmonella sp.*

TABELA 13 - PROVÁVEIS PERCENTUAIS DE MORBIDADE, MORTALIDADE E LETALIDADE ATRIBUÍDOS À INFEÇÃO POR *S.pullorum*.

NÚMERO PROPRIEDADE	MORBIDADE				MORTALIDADE				LETALIDADE
	<1S	1-2S	2-8S	>8S	<1S	1-2S	2-8S	>8S	
1	00,0	00,0	00,0	28,7	00,0	00,0	00,0	27,5	95,6
2	00,0	00,0	00,0	46,6	00,0	00,0	00,0	44,4	95,2
3	00,0	00,0	5,0	20,0	00,0	00,0	5,0	20,0	100,0
4	00,0	00,0	00,0	14,0	00,0	00,0	00,0	12,5	89,3
5	00,0	00,0	00,0	38,8	00,0	00,0	00,0	33,3	85,7
<b>TOTAIS</b>	<b>00,0</b>	<b>00,0</b>	<b>3,2</b>	<b>26,9</b>	<b>00,0</b>	<b>00,0</b>	<b>3,2</b>	<b>24,8</b>	<b>93,3</b>

Morbidade: +8S:  $\chi^2_{\text{calc.}} = 42,73$

$\chi^2_{.05} = 9,49$

Mortalidade: +8S:  $\chi^2_{\text{calc.}} = 39,28$

$\chi^2_{.05} = 9,49$

Obs.: 01 propriedade sem dados.

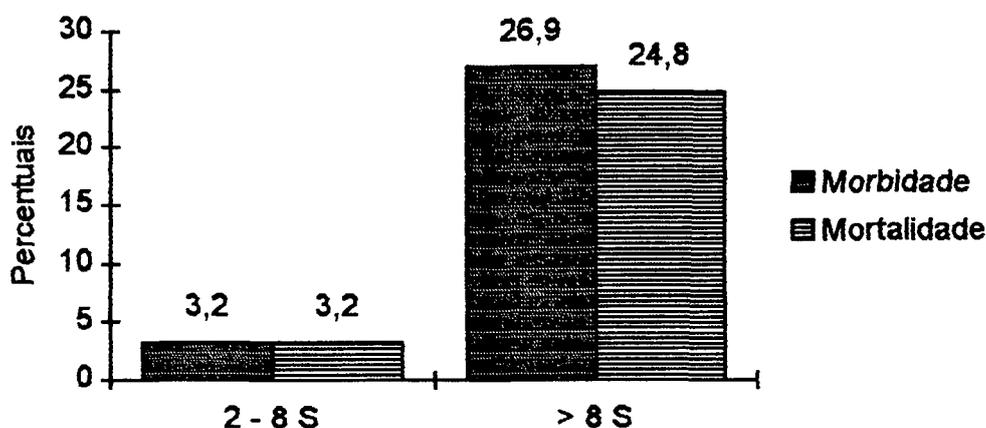


FIGURA 15 - PERCENTUAIS DE MORBIDADE E MORTALIDADE ATRIBUÍDOS A *S.pullorum* NO PERÍODO DE 1987-1991.

TABELA 14 - PROVÁVEIS PERCENTUAIS DE MORBIDADE, MORTALIDADE E LETALIDADE ATRIBUÍDOS À INFECÇÃO POR *S.gallinarum*.

NÚMERO PROPRIEDADE	MORBIDADE				MORTALIDADE				LETALIDADE
	< 1S	1-2S	2-8S	>8S	<1S	1-2S	2-8S	>8S	
1	00,0	00,0	57,9	00,0	00,0	00,0	57,9	00,0	100,0
2	00,0	00,0	00,0	40,6	00,0	00,0	00,0	40,6	100,0
3	00,0	00,0	00,0	38,5	00,0	00,0	00,0	38,5	100,0
4	00,0	00,0	00,0	40,0	00,0	00,0	00,0	38,9	97,2
5	00,0	00,0	00,0	20,0	00,0	00,0	00,0	18,5	92,3
6	00,0	00,0	00,0	12,0	00,0	00,0	00,0	12,0	100,0
7	00,0	00,0	00,0	36,6	00,0	00,0	00,0	36,6	100,0
8	00,0	00,0	00,0	64,3	00,0	00,0	00,0	64,3	100,0
9	00,0	00,0	14,8	12,4	00,0	00,0	14,8	11,8	97,8
10	00,0	00,0	5,0	7,6	00,0	00,0	5,0	7,6	100,0
11	00,0	00,0	6,6	00,0	00,0	00,0	6,1	00,0	91,6
12	00,0	00,0	00,0	32,3	00,0	00,0	00,0	32,3	100,0
13	00,0	00,0	00,0	60,0	00,0	00,0	00,0	60,0	100,0
14	00,0	00,0	42,3	00,0	00,0	00,0	40,0	00,0	94,5
15	00,0	00,0	00,0	22,2	00,0	00,0	00,0	22,2	100,0
16	00,0	00,0	00,0	40,0	00,0	00,0	00,0	40,0	100,0
17	00,0	00,0	00,0	30,9	00,0	00,0	00,0	30,9	100,0
18	00,0	00,0	10,5	5,3	00,0	00,0	10,5	5,3	100,0
19	00,0	00,0	31,2	00,0	00,0	00,0	31,2	00,0	100,0
20	00,0	00,0	00,0	65,7	00,0	00,0	00,0	62,8	95,6
21	00,0	00,0	24,0	00,0	00,0	00,0	20,0	00,0	83,3
22	00,0	00,0	00,0	45,3	00,0	00,0	00,0	43,3	95,5
23	00,0	00,0	10,0	37,5	00,0	00,0	5,0	25,0	84,2
24	00,0	00,0	16,6	00,0	00,0	00,0	16,6	00,0	100,0
<b>TOTAIS</b>	<b>00,0</b>	<b>00,0</b>	<b>17,8</b>	<b>34,3</b>	<b>00,0</b>	<b>00,0</b>	<b>17,3</b>	<b>33,6</b>	<b>97,9</b>

MORBIDADE: 2-8S:  $\chi^2_{\text{CALC}} = 286,8$

$$\chi^2_{.05} = 16,9$$

+8S:  $\chi^2_{\text{CALC}} = 450,2$

$$\chi^2_{.05} = 27,6$$

Obs.: 15 propriedades sem dados

MORTALIDADE: 2-8S:  $\chi^2_{\text{CALC}} = 289,5$

$$\chi^2_{.05} = 16,9$$

+8S:  $\chi^2_{\text{CALC}} = 427,0$

$$\chi^2_{.05} = 27,6$$

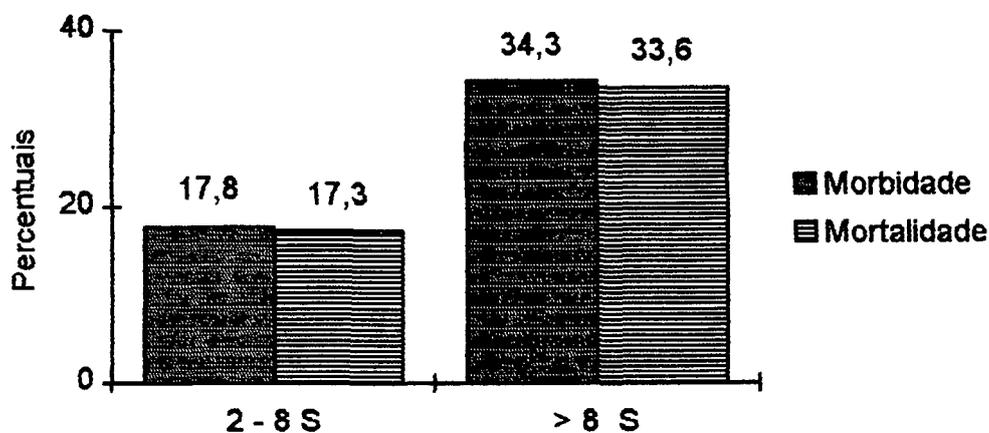


FIGURA 16 - PERCENTUAIS DE MORBIDADE E MORTALIDADE ATRIBUÍDOS A *S.gallinarum* NO PERÍODO DE 1987-1991.

TABELA 15 - PROVÁVEIS PERCENTUAIS DE MORBIDADE, MORTALIDADE E LETALIDADE ATRIBUÍDOS À INFECCÃO POR *S.enteritidis*.

NÚMERO PROPRIEDADE	MORBIDADE				MORTALIDADE				LETALIDADE
	< 1S	1-2S	2-8S	> 8S	< 1S	1-2S	2-8S	> 8S	
1	00,0	00,0	00,0	19,5	00,0	00,0	00,0	17,8	91,3
2	00,0	00,0	00,0	34,0	00,0	00,0	00,0	34,0	100,0
TOTAIS	00,0	00,0	00,0	23,8	00,0	00,0	00,0	22,6	95,0

MORBIDADE: +8S:  $\chi^2_{\text{CALC}} = 4,00$

$\chi^2_{.05} = 3,84$

MORTALIDADE:  $\chi^2_{\text{CALC}} = 5,1$

$\chi^2_{.05} = 3,84$

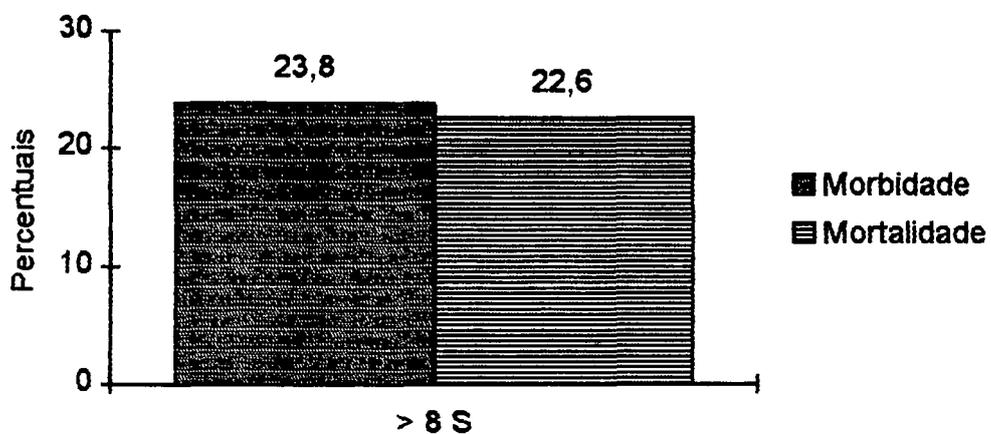


FIGURA 17 - PERCENTUAIS DE MORBIDADE E MORTALIDADE ATRIBUÍDOS A *S.enteritidis* NO PERÍODO DE 1987-1991.

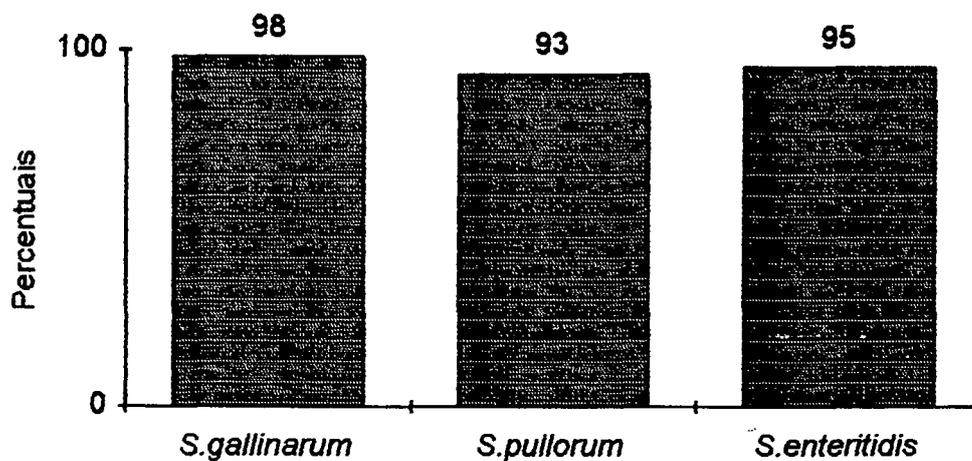


FIGURA 18 - TAXAS DE LETALIDADE ATRIBUÍDAS A *S.gallinarum*, *S.pullorum* E *S.enteritidis*.

## 5. DISCUSSÃO

### 5.1. FREQUÊNCIA DOS SOROVARES IDENTIFICADOS

O Estado do Paraná apresenta uma economia essencialmente agrícola, com aproximadamente 30% da população humana vivendo na zona rural. A maioria das propriedades rurais são consideradas "pequenas propriedades", tomando economicamente inviável a criação de grandes animais. Por sua vez, são muito exploradas outras criações, tais como aves, cabras, ovelhas, suínos, etc. (IBGE, 1991).

Nestas propriedades, a criação de aves domésticas de "fundo-de-quintal" ou "caseiras", pelas facilidades de manejo, baixo custo de manutenção, produção de carne, ovos e palatabilidade é muito difundida.

Este tipo de exploração avícola, na maioria das vezes, carece de cuidados higiênico-sanitários, favorecendo portanto a disseminação rápida de doenças (cólera aviária, salmonelose, doença de New Castle, etc.), tendo por isto importante participação como fonte potencial de transmissão destas doenças para as explorações de aves industriais, setor de grande desenvolvimento no Estado.

Apesar das salmoneloses aviárias serem causadas principalmente pelos sorovares *S.pullorum* e *S.gallinarum*, adaptados à espécie e pouco patogênicas ao homem, podem estar implicadas no seu desencadeamento outros sorovares altamente patogênicos, tanto para o homem como para as aves, como é o caso da *S.typhimurium* (ACHA & SZYFRES, 1986). Além do que, nesta enfermidade é comum a presença nas criações de portadores assintomáticos, o que potencialmente a torna ainda mais perigosa para o homem (WILLIAMS, 1984).

Este fato pode ser verificado através do levantamento sorológico realizado no Centro de Diagnóstico Marcos Enrietti nos anos de 1989 e 1990. Em 5.570 amostras de soros colhidos em 1.079 propriedades de criações caseiras, 223 (20,6%) reagiram positivamente à prova de soroaglutinação.

No presente trabalho, durante os anos de 1987 a 1991 foram examinadas 671 amostras de aves provenientes de propriedades distintas, das quais 47 (7,0%) mostraram-se infectadas com cepas de *Salmonella sp* (Tabela 1, Figura 1). Estes isolamentos foram obtidos a partir dos surtos ocorridos nestas 47 diferentes propriedades, localizadas em 33 municípios do Estado do Paraná (Tabela 12, Figura 14).

Dentre os resultados, verificou-se que os surtos causados por *Salmonella sp*, foram ocasionados por apenas três sorovares, salientando-se que o sorovar *S.gallinarum* (82,9%) foi o mais comumente isolado, seguido pelos sorovares *S.pullorum* (12,7%) e *S.enteritidis* (4,2%), os quais enquadraram-se dentro do sorogrupo D<sub>1</sub> (Tabelas 3, 4, 5, 6 e 7), que inclui os principais sorovares de *Salmonella sp* que afetam as aves, fato amplamente reconhecido na literatura (LE MINOR, 1984).

Com relação aos sorovares encontrados no presente trabalho, na Inglaterra e País de Gales, BLAXLAND *et al.* (1958) obtiveram isolamentos de *S.pullorum* (8,38%) somente de aves jovens, do total dos 18.422 lotes de aves domésticas examinados. Ao passo que nas aves adultas os índices de *S.gallinarum*, *S.pullorum* e *S.enteritidis* foram de 2,5%, 2,02% e 0,02%, respectivamente.

SOJKA & FIELD (1970), nos mesmos países relataram a participação da *S.gallinarum* e *S.pullorum*, responsabilizando-as por 37,4% e 30% dos surtos ocorridos entre as aves domésticas e silvestres.

Por outro lado, SOJKA *et al.* (1975) verificaram que *S.typhimurium* (41,1%) foi o sorovar mais comumente isolado entre as salmoneloses aviárias ocorridas. Salientando que encontraram ainda *S.enteritidis* (6,2%), *S.pullorum* (3,9%) e *S.gallinarum* (2,8%). Os autores observaram que a diminuição da ocorrência destes dois últimos sorovares deveu-

se ao sucesso do programa de eliminação dos reagentes positivos, fato também observado por SOJKA & FIELD (1970).

Segundo observações de BORLAND (1975), os surtos de salmoneloses que surgiam eram causados por microrganismos paratifóides, uma vez que *S.pullorum* e *S.gallinarum* foram virtualmente erradicados das criações avícolas britânicas, principalmente devido aos testes de aglutinação com sangue total (THAIN & BLANDFORD, 1981).

Por sua vez, nos mesmos países, WRAY (1985) observou baixos índices de *S.pullorum* (0,8%) e *S.gallinarum* (0,1%) nos surtos ocorridos, ressaltando que a maioria deles foi provocada por sorovares paratifóides como *S.typhimurium* (12,6%), *S.senftenberg* (11,2%) e *S.agona* (7,3%).

Nos Estados Unidos, MORAN (1959) já comprova a prevalência de *S.heidelberg* (8,0%) e *S.infantis* (6,7%) e apenas 3,9% de *S.pullorum* entre os isolamentos das aves. No entanto, o autor acreditava que a inexpressiva participação desta bactéria deveu-se mais ao pequeno número de amostras enviadas a centros de sorotipagem, do que à real dimensão da incidência da pulorose, uma vez que posteriormente verificou que *S.pullorum* foi o sorovar mais frequentemente isolado das aves (MORAN, 1960).

FADDOUL & FELLOWS (1966) e BRUNER (1973), através de suas investigações, observaram o predomínio de *S.typhimurium* nos surtos de salmoneloses nos Estados Unidos; porém, BRUNER (1973) encontrou um índice significativo de *S.pullorum* (20,0%) e menores de *S.enteritidis* (2,2%) e *S.gallinarum* (0,5%) causando doença.

A maior incidência de surtos causados por sorovares paratifóides como *S.typhimurium*, *S.enteritidis*, *S.infantis*, *S.heidelberg*, *S.newport*, *S.agona*, *S.senftenberg*, *S.derby* e outros, também foi constatada por LAURSEN-JONES (1968) na Inglaterra, SIDDIQUE *et al.* (1983) na Romênia, SOERJADI-LIEM & CUMMING (1984) na Austrália,

LAHELLEC *et al.* (1986) na França; YAGOUB & MOHAMED (1987) no Sudão, MACHADO & BERNARDO (1990) em Portugal e PADRON (1990) no México.

Diante destas pesquisas relatadas, verifica-se que a maioria dos surtos ou isolamentos de *Salmonella sp* que ocorrem atualmente nos países desenvolvidos são provocados por sorovares paratífóides, pois ambos microrganismos aviários espécie-específicos estão erradicados das grandes criações industriais. Nos Estados Unidos, estas são consideradas livres desde o início dos anos setenta (SNOEYENBOS, 1984), embora BRUNER (1973) tenha enfatizado a necessidade de vigilância constante sobre *S.pullorum* já que isolamentos esporádicos continuavam acontecendo anualmente.

Nesta mesma linha de raciocínio MCBRIDE *et al.* (1991) chamam a atenção para a inexistência de pesquisas nas criações não-industriais, fato preocupante, uma vez que as doenças são comuns tanto para as aves de criações industriais como para de criações caseiras. Também consideram que as medidas para prevenir a transmissão das doenças são igualmente importantes para ambas criações.

Em contrapartida, no presente trabalho obteve-se índices significativos de isolamento de *S.gallinarum* (82,9%) e *S.pullorum* (12,7%) ainda que em criações caseiras, permitindo concluir que a realidade atual das criações são comparáveis a destes países nas décadas de cinquenta e sessenta.

Quanto à salmonelose aviária no Brasil, REIS *et al.* (1955) e BUENO *et al.* (1962), embora não especificando o tipo de criação (industrial ou caseira), encontraram índices de pulorose e tifo-aviário semelhantes, 4,43% e 1,82%; 5,06% e 2,12%, respectivamente.

BUENO *et al.* (1971), notaram uma leve diminuição dos surtos tifo-pulorose, em comparação com os dados das investigações anteriores. Em tabela representando 38 anos de surtos examinados, a frequência da pulorose atingiu 4,47% e o tifo-aviário 1,62%.

No que se refere a criações industriais, SILVA (1978) encontrou em lotes de galinhas e perus aparentemente saudáveis, 6,0% de isolamento de *Salmonella sp.* Entre os sorovares isolados, o mais freqüente foi *S.arizonae* (2,3%) nos perus e *S.typhimurium* (1,8%) nas galinhas.

Ao contrário dos resultados vistos acima, no presente trabalho verifica-se maiores índices de tifo-aviário (5,8%), seguido de pulorose (0,89%) e paratifóide (0,29%). Ressalta-se ainda que a pulorose só afetou aves adultas, enquanto as pesquisas anteriormente descritas foram condizentes com as observações publicadas (POMEROY, 1984; SNOEYENBOS, 1984).

Por sua vez, SALLE *et al.* (1979), avaliando a relação entre a infecção nas granjas reprodutoras e nos plantéis comerciais, obtiveram um percentual médio de 8,42% de casos de tifo-pulorose. Estes dados foram semelhantes aos encontrados na presente pesquisa, onde verificou-se uma incidência média de 7,0% de surtos ocorridos pelas referidas doenças.

Também HOFER (1985) demonstrou que no período de 1966-1975, representando um total de 308 amostras de *Salmonella sp* analisadas, 146 (47,7%) foram identificadas como *S.pullorum* e apenas 38 (12,3%) caracterizaram-se como *S.gallinarum*. Na fase final da pesquisa, 1976-84, do total de 543 amostras recebidas, o autor observou uma inversão com a predominância de isolamentos de *S.gallinarum*, representada por 204 culturas ou 37,5%, enquanto *S.pullorum* foi caracterizada em 109 oportunidades ou 20,0%.

Estes resultados foram compatíveis aos achados aqui relatados, uma vez que a maior prevalência dos isolamentos foram devido a *S.gallinarum* (82,9%) isoladas de 39 das 47 culturas obtidas, seguida da *S.pullorum*, encontrada em 6 culturas ou 12,7%.

Vale ressaltar que na presente pesquisa encontrou-se *S.enteritidis* em 2 culturas, ou 4,2%. Acredita-se face a literatura consultada, e por este sorovar não ter sido

previamente descrito, que talvez seja o primeiro relato no Brasil de *S. enteritidis* causando mortalidade em aves de criações caseiras.

## 5.2. SENSIBILIDADE E RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS.

Quanto à sensibilidade apresentada pelas 47 cepas de *Salmonella sp*, observou-se que as mesmas mostraram um comportamento muito semelhante entre os três sorovares encontrados frente à amicacina (30 µg), ampicilina (10 µg), cefalotina (30 µg), cloranfenicol (30 µg), colistina (10 µg), estreptomicina (10 µg), gentamicina (10 µg), nitrofurantoína (300 µg), novobiocina (30 µg), polimixina-B (300 µg), sulfonamidas (300 µg), sulfa-trimetoprim (25 µg), tetraciclina (30 µg), flumequina (30 µg), canamicina (30 µg) e neomicina (30 µg) (Tabelas 8, 9 e 10).

Por outro lado, os sorovares *S.gallinarum* e *S.enteritidis* apresentaram um perfil intermediário a nitrofurantoína (300 µg) e resistência a novobiocina (30 µg) e sulfonamidas (300 µg) (Tabelas 8 e 10). O sorovar *S.pullorum* mostrou-se resistente a novobiocina (30 µg) e sulfonamidas (300 µg) (Tabela 9).

Podemos observar que as sensibilidades e resistências das amostras isoladas no presente trabalho são condizentes com as conclusões relatadas por WILSON & MILES (1975), de que praticamente todos os sorovares de *Salmonella sp* apresentam-se sensíveis aos vários antimicrobianos, embora alguns não exibam efeito terapêutico.

Segundo BENNETT (1980), aproximadamente 50% da produção de antibióticos nos Estados Unidos, são utilizados nos animais domésticos, principalmente como promotores de crescimento. A exposição contínua a estes antibacterianos em subdosagens favorece o surgimento de clones resistentes, tornando-se um fator de grave risco às infecções humanas por *Salmonella sp* de origem animal.

Estes produtos químicos interrompem a competição normal existente na microbiota gastro-intestinal, pela eliminação de grande número de espécies bacterianas favorecendo as resistentes. O autor concluiu que uma vez adquirida a resistência, estes clones seriam disseminados naturalmente entre as criações, e estas atuariam como reservatórios destes microrganismos.

GILL & HOOK (1966) constataram que dos 254 isolamentos do microrganismo citado, 35 (14%) apresentaram resistência a ampicilina, cloranfenicol, tetraciclina, estreptomicina e sulfonamidas. Também POCURULL *et al.* (1971) estudaram o comportamento frente aos antimicrobianos de 1251 cepas de *Salmonella sp* provenientes de surtos de várias espécies de animais domésticos. Verificaram que 935 (74,7%) delas mostraram resistência a um ou mais antibióticos.

Na Inglaterra e País de Gales, SOJKA *et al.* (1972) examinaram 2143 cepas de *Salmonella sp* isoladas de várias espécies animais compreendendo 44 sorovares, testando-as frente a nove substâncias antibacterianas. Quinhentos e onze (511) destas culturas provinham de aves domésticas, das quais, 468 (91,6%) foram resistentes a sulfadimedina, 20 (3,9%) a oxitetraciclina, 15 (2,9%) a estreptomicina e 9 (1,7%) a sulfatiazole. Observaram 32 diferentes perfis de resistência, enquanto em apenas 7,8% das amostras houve sensibilidade a todas as drogas testadas.

LAKHOTIA & STEPHENS (1973) determinaram a resistência de cepas de *Salmonella sp* frente a nove agentes antimicrobianos. Das 106 culturas examinadas, somente 47 (44,3%) foram resistentes a uma ou mais drogas testadas. O perfil de resistência mais comum foi apresentado diante a dihidroestreptomicina (82,9%), tetraciclina (61,7%), neomicina (36,1%), sulfas (23,4%) e colistina (2,1%). Quando às cepas resistentes foram agrupadas de acordo com as fontes de origem, observou-se que 69,5% delas provinham de perus, enquanto 26,0% e 24,3% de rações e galinhas, respectivamente.

No Canadá, DUCK *et al.* (1978) relacionaram os padrões de resistência aos antibióticos, as fontes de isolamento, sorovares e fagovares. Do total de 2105 salmonelas isoladas, 1347 (64,0%) foram sensíveis a todas as drogas testadas, 336 (16,0%) apresentaram-se resistentes a um agente antimicrobiano, e as restantes 422 (20,0%) a dois ou mais antibióticos. Conforme os autores, a maioria dos sorovares isolados das aves domésticas apresentaram-se multiresistentes.

Nos Estados Unidos, RYDER *et al.* (1980), estudaram o comportamento de 754 cepas de *Salmonella sp* frente as drogas antibacterianas. Observaram em oito anos de pesquisa um aumento significativo da resistência de vários sorovares a estreptomicina, sulfonamidas, ampicilina e canamicina. Segundo os autores, estas drogas, normalmente empregadas como promotores de crescimento nos animais domésticos, provavelmente contribuam para o surgimento das resistências encontradas nas salmonelas isoladas de infecções humanas.

Na Austrália, REECE & COLOE (1985), verificaram que os isolamentos de *Salmonella sp* provenientes de aves domésticas apresentaram resistência a tetraciclina, sulfonamidas, furazolidona e sulfametoxazole-trimetoprim e tetraciclina. Também observaram que as cepas isoladas de aves caseiras eram resistentes a neomicina, estreptomicina, sulfonamidas, sulfametoxazole-trimetoprim e tetraciclina. Conforme os autores, este perfil às sulfonamidas e tetraciclinas é uma consequência direta da sua utilização profilática no controle de doenças infecciosas nestas criações.

WRAY (1985) deduziu que as cepas de *Salmonella sp* apresentam altas taxas de resistência a estreptomicina (10 µg) e sulfonamidas (50 µg), devido as baixas concentrações nos discos de antibióticos utilizados nos testes de sensibilidade "in vitro". Quando são utilizadas maiores concentrações de estreptomicina (25 µg) e sulfonamidas (500 µg), as taxas caem para 12,4% e 27,3%, respectivamente.

Na Nova Zelândia, HEFFERNAN (1991) analisou a sensibilidade aos antibióticos de 2210 isolamentos de *Salmonella sp*, dos quais, 574 (25,9%) provindas de aves

domésticas e 26,7% de outros animais (bovinos, ovinos). Os perfis de resistência mais comuns apresentados foram frente à estreptomicina e sulfametoxazole (1,1%) e tetraciclina (0,8%). As cepas isoladas de origem humana foram mais resistentes (10,0%) do que das aves domésticas (3,7%).

Ao analisar os trabalhos acima citados, verifica-se a grande preocupação dos autores quanto aos perfis de resistência apresentados pelas cepas de *Salmonella* aos antimicrobianos, uma vez que estes são amplamente utilizados na indústria animal como promotores de crescimento. Administrados em subdosagens nas rações dos animais domésticos, com o objetivo de melhorar a performance destes causam ao mesmo tempo um desequilíbrio na microbiota intestinal favorecendo a predominância das cepas resistentes, tomando-as potencialmente perigosas à saúde humana e animal.

Neste experimento, o resultado dos perfis de resistência às drogas foi um só, o que é amplamente desejável do ponto de vista epidemiológico. Isto permite concluir que, provavelmente as aves de criações caseiras no Estado do Paraná não recebem ração com promotores de crescimento como as aves industriais e tampouco tratamento profilático. O fato de surgirem clones resistentes nas criações de aves industriais provavelmente deva-se ao uso destas drogas na sua alimentação. Outra constatação apresentada e que deve ser novamente citada é a alta mortalidade e letalidade ocorrida nos 47 surtos, o que torna a antibioticoterapia das aves sobreviventes inviável do ponto de vista econômico. O ideal neste caso seria o sacrifício total destas aves, e após um período de "all out", proceder-se-ia a desinfecção das instalações da propriedade e um repovoamento com pintinhos de matrizeiros idôneos.

### 5.3. *Salmonella* sp E SEU PAPEL NA SAÚDE PÚBLICA.

No presente trabalho, a maioria dos surtos ocorridos entre as aves foram causados pelos sorovares espécie-específicos *S.gallinarum* (82,9%) e *S.pullorum* (12,7%). Interessante mencionar o isolamento de *S.enteritidis* (4,2%) provocando enfermidade nas criações de aves caseiras, confirmando as observações da literatura especializada de que as aves domésticas são reservatórios de *Salmonella* sp potencialmente patogênicos e portanto veiculadoras de infecções ao homem.

Embora *S.gallinarum* e *S.pullorum* não sejam patogênicas ao homem adulto, podem afetar crianças. Por sua vez, a *S.enteritidis* é um sorovar que ocorre tanto nos animais quanto no homem, considerado altamente patogênico a este (ACHA & SZYFRES, 1986). Atualmente é um dos sorovares mais responsabilizados pelos casos de salmonelose humana (FANTASIA *et al.*, 1991).

Segundo PASQUIER<sup>1</sup>, citado por MORSE & DUNCAN (1974), o primeiro surto epidêmico desta enfermidade foi documentado na França em 1818, provocado pela *S.typhi* envolvendo 17 pessoas com 2 mortes, causadas pelo consumo de ostras conservadas em água de fosso, também utilizada como esgoto sanitário.

GALBRAITH (1961), em dez anos de estudos verificou que as carnes e seus derivados foram os veículos mais comuns de salmonelose humana, responsáveis por 47% dos surtos. Vinte e sete por cento (27,0%) foram atribuídos aos ovos e seus derivados; os produtos de confeitaria contribuíram com 15% e outros alimentos com 11%.

Conforme WILLIAMS (1984), a salmonelose produz aproximadamente 2,5 milhões de casos humanos por ano, com cerca de 500.000 hospitalizações e 9.000 mortes. A maioria das doenças bacterianas que causam surtos de toxi-infecções

---

<sup>1</sup> PASQUIER, J.P.A. *Essai medicale sur les huitres, etc.* Collections des Theses (souten ves) a la Faculte de Medicina de Paris, Tome Huitieme, v.7, p.49, 1818. Citado por: MORSE, E. V.; DUNCAN, M. A. 1974.

alimentares ao homem nos Estados Unidos tem sido em virtude de *Salmonella sp*, com carne de aves domésticas, responsável por 39% dos casos, fato também comprovado por DEMONT (1984).

No mesmo país ROBERTS (1988) verificou que os custos da salmonelose humana durante 1987 foram avaliados em torno de um bilhão de dólares.

Na Grã-Bretanha, SOCKETT & ROBERTS (1991), estimaram os custos sociais causados pelos 23.000 casos de salmonelose humana ocorridos em 1988: somente no setor de saúde pública os prejuízos alcançaram dez milhões de dólares, enquanto na indústria chegaram a treze milhões de dólares.

Quanto aos aspectos das toxi-infecções alimentares, na Inglaterra e País de Gales, VERNON & TILLET (1974) observaram que a salmonelose foi a causa mais comum entre as enfermidades, uma vez que 80% dos casos ocorridos foram causados por *Salmonella sp*. De 127 surtos, 52% foram associados às aves domésticas, 27% a outros tipos de carne, 20% em leite e creme e 2% com produtos à base de ovos. O sorovar mais comum foi *S.typhimurium*, responsável por 35% dos isolamentos, seguido da *S.enteritidis* com 12%.

Nos mesmos países, ROBERTS (1982) analisou dados referentes a 1044 surtos envolvendo estas intoxicações. Observou que 396 (38%) foram em consequência de *Salmonella sp*, cujo alimento mais freqüentemente implicado provinha das aves domésticas.

Ainda nestes países, WRAY (1985) verificou no período de 1978-1982 49.169 casos de toxi-infecção alimentar, dos quais 16.478 (33,5%) provocados por *S.typhimurium* e 32.691 por outros sorovares.

Por outro lado, a incidência de salmonelose humana é difícil de ser avaliada, uma vez que muitos países não dispõem de um sistema de vigilância epidemiológica e, onde existem, os casos esporádicos e mais leves não são notificados. O controle beneficiaria a comunidade, mas só seria possível através da estreita colaboração entre

médicos, veterinários e autoridades sanitárias na investigação dos problemas e na promoção de métodos para a prevenção da doença (WRAY, 1985; ACHA & SZYFRES, 1986).

#### 5.4. TAXAS DE MORBIDADE, MORTALIDADE E LETALIDADE ATRIBUÍDAS A *S.pullorum*, *S.gallinarum* E *S.enteritidis*.

Observou-se as taxas de morbidade, mortalidade e letalidade aviária atribuídas a infecções causadas pelos sorovares *S.pullorum*, *S.gallinarum* e *S.enteritidis*, ocorridas em 47 criações de aves caseiras, cujos lotes variavam de 30 até 350 aves.

As aves com um dia a duas semanas de idade não apresentaram taxas de morbidade e mortalidade nos surtos causados pelos três sorovares citados. No entanto, na faixa etária das aves com duas a oito semanas de idade, verificaram-se índices médios de morbidade e mortalidade idênticos para *S.pullorum* de 3,2% respectivamente, enquanto para *S.gallinarum* de 17,8% e 17,3% (Tabelas 13 e 14), e nos surtos causados por *S.enteritidis*, estas idades não foram atingidas (Tabela 15).

Na faixa etária das aves consideradas adultas, isto é, com mais de oito semanas de idade, a morbidade e mortalidade média causadas pela *S.pullorum* foram de 26,9% e 24,8%; *S.gallinarum*, 34,3% e 33,6%; *S.enteritidis*, 23,8% e 22,6% respectivamente (Tabelas 13, 14 e 15).

No presente estudo, observaram-se alguns aspectos interessantes no que se refere aos surtos de pulorose. Segundo a literatura, esta vem a ser uma enfermidade que afeta especialmente pintinhos e quando acomete aves adultas, elas não manifestam características de infecção (SNOEYENBOS, 1984). No entanto, foi constatado a forma aguda da doença e mortalidade repentina em aves adultas, causadas pela *S.pullorum* em seis surtos, enquanto as aves jovens presentes nos mesmos lotes afetados não evidenciaram a doença. Estes achados também foram encontrados por ERBECK *et al.*

(1993). No trabalho, os autores mencionaram que os fornecedores destas aves (matrizeiros) também tiveram problemas de pulorose no plantel. Provavelmente as aves, quando adquiridas, vieram contaminadas da origem com *S.pullorum*, que manifestou-se 5 meses após, enquanto aves jovens de origem distinta mantiveram-se sadias.

O mesmo pode ter ocorrido nos seis lotes de aves em que apenas as adultas manifestaram a doença, demonstrando a importância da origem das aves. Como se sabe, neste Estado, os criadores de aves caseiras adquirem as mesmas ainda pintinhos de matrizeiros industriais ou de incubatórios de ovos de várias origens, bem como formam seus lotes a partir dos produtos gerados de suas propriedades, de seus vizinhos, o que dificulta em muito o controle da doença. Caso o fornecimento destes animais fosse realizado apenas por matrizeiros com inspeção sanitária permanente, haveria um maior controle do tifo-pulorose e concomitantemente uma melhoria genética dos plantéis.

O fato das aves jovens permanecerem sadias, convivendo com aves adultas portadoras e enfermas durante os surtos causados pela *S.pullorum* poderia ser explicado pela importância da transmissão vertical desta doença, quando comparada com a transmissão horizontal. O mesmo poderia deduzir-se do tifo-aviário, uma vez que nas propriedades em que as aves adultas apresentaram a doença, estas poderiam ter transmitido às jovens, que permaneceriam aparentemente sadias, mas portadoras manifestando a doença mais tarde quando atingem a idade adulta.

Também foi comprovado no presente estudo, que muitas taxas individuais (propriedade por propriedade) foram superiores as médias encontradas nos cinco anos analisados. Por exemplo, quanto à pulorose, os índices obtidos em três propriedades foram de 28,7%, 38,8%, 46,6% para a morbidade e 27,5%, 33,3% e 44,4% para a mortalidade (Tabela 13). Em quatro surtos de tifo-aviário, encontramos percentuais variando de 36,6%, 38,5%, 45,3%, 65,7% de morbidade e de 36,6% até 62,8% de mortalidade entre as aves adultas (Tabela 14). Em relação à *S.enteritidis*, a taxa de morbidade variou de 19,5% e 34,0% e mortalidade de 17,8% e 34,0% nos lotes atingidos.

Segundo SNOEYENBOS (1984), POMEROY (1984) e WILLIAMS (1984), a morbidade e mortalidade são altamente variáveis, ou seja, de zero a 100% nos surtos graves.

Ainda no estudo apresentado, as taxas de letalidade atribuídas à *S.gallinarum*, *S.pullorum* e *S.enteritidis* situaram-se em 98,0%, 93,0% e 95,0%, respectivamente (Figura 18). Estes dados demonstraram que os referidos microrganismos foram altamente patogênicos às aves afetadas.

Quanto as taxas de morbidade e mortalidade observadas por outros pesquisadores nos casos de salmoneloses aviárias, raras informações foram encontradas:

LAURSEN-JONES (1968) citou um percentual de 3,7% de mortalidade em um lote de frango de corte, infectado com *S.typhimurium*.

PADRON (1990) verificou a ocorrência de 1,7% a 10,6% de mortalidade no surto causado por *S.typhimurium* em um lote industrial.

Os demais autores mencionados neste trabalho não indicaram as possíveis morbidades e mortalidades ocorridas em suas pesquisas.

Os resultados alcançados na presente pesquisa demonstraram, sem sombra de dúvida, a participação da salmonelose aviária nos plantéis de aves caseiras em 7,0% dos surtos septicêmicos ocorridos, com a presença dos três sorovares em questão. Embora em 93% dos casos este agente não tenha sido isolado, outros microrganismos estavam presentes. A participação das infecções virais e parasitárias poderia explicar tais resultados e juntamente com os outros agentes bacterianos isolados (Tabela 2) atuando secundariamente, afetaram grande número de plantéis em maior percentagem.

Por outro lado, pode-se concluir que no Estado do Paraná, durante os anos de 1987 a 1991, 33 municípios tiveram suas criações avícolas com mortalidades causadas por microrganismos do gênero *Salmonella sp*, responsável pelos 47 surtos ocorridos (Tabela 12, Figura 14). Fato preocupante, uma vez que as aves sobreviventes em maior

número, poderiam desempenhar o papel de reservatórios do microrganismo, possibilitando o surgimento de novos surtos nas aves da mesma propriedade bem como às de outras propriedades, de fundo de quintal e industriais da região.

Face ao exposto, sugere-se tentar o controle e a erradicação de ambas enfermidades, pulrose e tifo-aviário, inicialmente através de programas básicos, como a intensificação de testes sorológicos, com o objetivo de identificar as aves portadoras e sua posterior eliminação. Prevenindo assim, as criações industriais de prováveis surtos por *Salmonella sp*, o que evitaria também graves prejuízos econômicos.

Outra medida mais radical, porém necessária, uma vez constatado o problema de salmonelose, seria a eliminação total do lote, permanecendo a propriedade vazia "all out" por um período estratégico. O repovoamento dar-se-ia através de orientação médico-veterinária e acompanhamento permanente.

Acredita-se que os resultados obtidos neste trabalho, dignos de outras investigações, possam ter preenchido a deficiência de informação existente em torno das criações caseiras, tão importantes na epidemiologia das salmoneloses.

## 6. CONCLUSÕES

As análises efetuadas a nível de laboratório, permitiram concluir que:

- A salmonelose foi registrada em 7,0% das amostras de aves examinadas no laboratório, provenientes de criações caseiras com histórico de mortalidade.
- Três sorovares pertencentes ao sorogrupo "D1" foram identificados como responsáveis pelos 47 surtos ocorridos durante 1987 a 1991 no Estado do Paraná.
- *Salmonella gallinarum* foi o sorovar prevalecente das enfermidades, participando em 82,9% dos surtos.
- *Salmonella pullorum* participou em 12,7% dos surtos ocorridos, afetando principalmente aves adultas.
- *Salmonella enteritidis* estava presente em 4,2% dos surtos, exibindo infecção sistêmica.
- As 47 cepas de *Salmonella sp* apresentaram idêntica sensibilidade frente aos antimicrobianos utilizados.
- A salmonelose aviária é uma enfermidade de ocorrência anual, apresentando algumas variações quando distribuída nas estações do ano, em relação a primavera (31,9%), outono (25,5%), verão (23,4%) e inverno (19,1%).
- Microrganismos do gênero *Salmonella sp* não foram responsáveis pela maioria das mortalidades que incidiram nas criações de aves caseiras, nos surtos analisados.

## 7. RESUMO

Com o objetivo de verificar a participação de *Salmonella* sp como causa de mortalidade entre as aves domésticas das criações caseiras no Estado do Paraná, foram analisadas, no período de 1987 a 1991, 671 amostras de aves, obtendo-se 7,0% de isolamento positivo, totalizando 47 cepas do microrganismo. Foram encontrados três sorovares causando doença, entre os quais, *S.gallinarum* (82,9%) responsável pela maioria dos surtos, seguido pela *S.pullorum* (12,7%) e *S.enteritidis* (4,2%). Vale ressaltar que o sorovar *S.pullorum* afetou somente as aves adultas. As 47 cepas de *Salmonella* pertenciam ao sorogrupo D1, apresentando semelhante sensibilidade e resistência aos antibióticos e quimioterápicos quando testados "in vitro". Comprovou-se estatisticamente correlação entre o isolamento dos três sorovares citados com a morbidade e mortalidade ocorridas. Quanto ao sorovar *S.gallinarum*, as taxas médias de morbidade e mortalidade observadas nas aves consideradas jovens adultas (duas a oito semanas de idade) e adultas (mais de oito semanas de idade), situaram-se em 17,8%, 34,3% e 17,3%, 33,6%, respectivamente. No que se refere à *S.pullorum* as mesmas faixas etárias em relação a morbidade foram de 3,2% e 26,9% e mortalidade de 3,2% e 24,8%. *S.enteritidis* causou índices de morbidade de 23,8% e mortalidade de 22,6% somente na faixa etária das aves consideradas adultas. As aves jovens (1 a 14 dias de idade) não foram afetadas pela doença. Os percentuais de letalidade em relação à *S.gallinarum*, *S.pullorum* e *S.enteritidis*, foram de 97,9%, 93,3% e 95,0%, respectivamente. Observou-se ainda que a salmonelose ocorreu em todos os meses do ano. No entanto, quando distribuídos nas estações do ano, a primavera (31,9%) concentrou maior número de surtos, seguido do outono (25,5%), verão (23,4%) e inverno (19,1%).

## 8. SUMMARY

In order to check the role of the *Salmonella* as the cause of mortality of non commercial flocks of chicken in the State of Parana - Brazil, between 1987 and 1991, 671 samples were analyzed. The percentage of positive cases was 7,0%, comprising 47 different strains of the microorganism. Three serovars of *Salmonella* affected the birds. *S.gallinarum* was present in 82,9% of the outbreaks, *S.pullorum* in 12,7%, and *S.enteritidis* in only 4,2% of them. It is important to notice that *S.pullorum* affected only adult animals. When tested "in vitro" all the 47 strains of *Salmonella* belonged to the D<sub>1</sub> serogroup, and showed similar resistance and sensitivity to antibacterial drugs. There is statistically significant correlation between the isolated serovars and the occurrence of morbidity and mortality. The mean rates of morbidity and mortality caused by the *S.gallinarum* serovar were respectively 17,8% and 34,3%, for young adults (two to eight weeks) and 17,3% and 33,6%, for adults (more than eight weeks). For the same age groups, the mean rates related to morbidity and mortality caused by *S.pullorum* was 3,2% and 26,9%, and 3,2% and 24,8%, respectively. The *S.enteritidis* affected only adult birds, causing 23,8% of morbidity and 22,6% of mortality. The group of young birds (one to 14 days) did not show morbidity or mortality. The lethality caused by *S.gallinarum*, *S.pullorum* and *S.enteritidis* was 97,9%, 93,3% and 95,0%, respectively. The salmonellosis was observed in all months of the year, with the greater number of outbreaks in the spring (31,9%). The percentages for the other seasons were 25,5%, 23,4% and 19,1%, for the fall, summer and winter, respectively.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. ACHA, P. N.; SZYFRES, B. Salmonelosis. In: ZOONOSIS y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Washington : Organización Mundial de la Salud. 1977. p. 86-92.
2. ACHA, P. N.; SZYFRES, B. Salmonelosis. In: ZOONOSIS y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 2 ed. Washington : Organización Mundial de la Salud. 1986. p. 158-167.
3. BAYLEY, J. S. Integrated colonization control of *Salmonella* in poultry. Poult. Sci., Champaign, v. 67, n. 6, p. 928-932 , 1988.
4. BAUER, A. W.; KIRBY, W. M. M.; SHERRIS, J. C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am. J. Clin. Pathol., Philadelphia, v. 45, n. 4, p. 493-496, 1966.
5. BENNETT, J. V. Antibiotic use in animals and human salmonellosis. J. Infect. Dis., Chicago, v. 142, n. 4, p. 631-632, 1980.
6. BERGEY'S Manual of Determinative Bacteriology. 5. ed. Baltimore : Williams & Wilkins, 1939. 963 p.
7. BERGEY'S Manual of Systematic Bacteriology. 9. ed. Baltimore : Williams & Wilkins, 1984. 964 p.

8. BHATIA, T. R. S.; McNABB, G. D.; WYMAN, H.; NAYAR, G. P. S. *Salmonella* isolation from litter as an indicator of flock infection and carcass contamination. Avian Dis., Pennsylvania, v. 23, n. 4, p. 839-847, 1979.
9. BIER, O. Técnicas bacteriológicas. In: \_\_\_\_\_. Bacteriologia e Imunologia. 19. ed. São Paulo : Melhoramentos, 1978. p. 784.
10. BLAXLAND, J. D.; SOJKA, W. J.; SMITHER, A. M. Avian Salmonellosis in England and Wales 1948-56, with comment on its prevention and control. Vet. Rec., London, v. 70, n. 18, p. 374-382, 1958.
11. BORLAND, E. D. *Salmonella* infection in poultry. Vet. Rec., London, v. 97, p. 406-408, 1975.
12. BRUBAKER, R. R. Mechanisms of bacterial virulence. Ann. Rev. Microbiol. Palo Alto, v. 39, p. 21-50, 1985.
13. BRUNER, D. W. *Salmonella* cultures typed during the years 1950-1971 for the service laboratories of the New York state veterinary college at Cornell University. Cornell Vet., Ithaca, v. 63, p. 138-143, 1973.
14. BUENO, R. C.; NAKANO, M.; BAQUER, S. R. Doenças de aves em São Paulo: Análise de 28.174 casos. Arg. Inst. Biol., São Paulo, v. 29, p. 231-270, 1962.
15. BUENO, R.; BAQUER, S. R.; NAKANO, M. Doenças de aves em São Paulo: Análise de 24.217 casos. Rev. Med. Vet., São Paulo, v. 6, n. 3, p. 225-266, 1971.

16. COURTECUISSÉ, C.; JAPIOT, F.; BLOCH, N.; DIALLO, I. Enquête sérologique sur les maladies de New Castle et de Gumboro, la pasteurellose et la pullorose chez des poules de race locale au Niger. Rev. Élev. Méd. vet. Pays trop., Paris, v. 43, n. 1, p. 27-29, 1990.
17. DEMONT, P. Contamination humaine par les Salmonelles présentes dans les denrées d'origine animale. Sci. Vét. Méd. Comp., Charbonnières, v. 86, n. 4, p. 129-133, 1984.
18. DUBBERT, N. H. Assessment of *Salmonella* contamination in poultry - past, present and future. Poult. Sci., Champaign, v. 67, p. 944-949, 1988.
19. DUCK, P. D.; DILLON, J. R.; LIOR, H.; EIDUS, L. Antibiotic resistance among predominant *Salmonella* serovars and phagovars in Canada. Can. J. Microbiol., Ottawa, v. 24, p. 1358-1365, 1978.
20. EDWARDS, P. R.; EWING, W. H. Identification of enterobacteriaceae. 3. ed. Minneapolis : Burgess, 1972. 362 p.
21. EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisas de Suínos e Aves. Guia de necropsia de aves e envio de material para o laboratório. Circular Técnica, Embrapa/CNPQA, Concórdia, n. 4, p. 14-22, 1983.
22. ERBECK, D. H.; McLAUGHLIN, B. G.; SINGH, S. N. Pullorum Disease with unusual signs in two backyard chicken flocks. Avian Dis., Pennsylvania, v. 37, p. 895-897, 1993.

23. FADDOUL, G. P.; FELLOWS, G. W. A five-year survey of *Salmonellae* in avian species. Avian Dis., Pennsylvania, v. 10, p. 296-304, 1966.
24. FANELLI, M. J.; SADLER, W. W.; BROWNELL, J. R. Preliminary studies on persistence of *Salmonellae* in poultry litter. Avian Dis., Pennsylvania, v. 14, n. 1, p. 131-141, 1970.
25. FANTASIA, M.; FILETICI, E. Italian experience in *Salmonella* spp isolations from 1973 to 1986. Microbiologica, Bologna, v. 12, p. 859, 1989.
26. FANTASIA, M.; FILETICI, E.; ANASTASIO, M. P.; MARCOZZI, M. D.; GRAMENZI, M. P.; AURELI, P. Italian experience in *Salmonella enteritidis* 1978-1988 : characterization of isolates from food and man. Int. J. Food Microbiol., Amsterdam, v. 12, p. 353-362, 1991.
27. FORSYTHE, R. H.; ROSS, W. J.; AYRES, J. C. *Salmonellae* recovery following gastro-intestinal and ovarian inoculation in the domestic fowl. Poult. Sci., Champaign, v. 46, p. 849-855, 1967.
28. GALBRAITH, N. S. Studies of human salmonellosis in relation to infection in animals. Vet. Rec., London, v. 73, n. 48, p. 1296-1303, 1961.
29. GAST, R. K.; BEARD, C. W. Age-related changes in the persistence and pathogenicity of *Salmonella typhimurium* in chicks. Poult. Sci., Champaign, v. 68, n. 11, p. 1454-1460, 1989.

30. GAST, R. K.; BEARD, C. W. Production of *Salmonella enteritidis* contaminated eggs by experimentally infected hens. Avian Dis., Pennsylvania, v. 34, p. 438-446, 1990.
31. GIANNELLA, R. A. *Salmonella*. In: BARON, S. Medical Microbiology. 2. ed. Galveston, Texas : Addison-Wesley, 1986, p. 452-458.
32. GIBBONS, N. E.; MOORE, R. L. A note on artificially infected fowl as carriers of *Salmonella*. Poult. Sci., Champaign, v. 25, p. 115-118, 1946.
33. GILL, F. A.; HOOK, E. W. *Salmonella* strains with transferable antimicrobial resistance. J.A.M.A., Chicago, v. 198, n. 12, p. 129-131, 1966.
34. GILLESPIE, J. H.; TIMONEY, J. F. The enterobacteriaceae - The non-lactose fermenters. In: \_\_\_\_\_. Hagan and Bruner's Infectious Diseases of Domestic Animals. 7. ed. Ithaca : Cornell University Press, 1981, p. 84-97.
35. GRUNDLER, G.; SCHIMIDT, M.; DJABAKOU, K. Sérologie de la maladie de New Castle et de la salmonellose (*S.gallinarum-pullorum*) chez les volailles des petites exploitations paysannes au Togo. Rev. Élev. Méd. vét. Pays trop., Paris, v. 41, n. 4, p. 327-328, 1988.
36. HEFFERNAN, H. M. Antibiotic resistance among *Salmonella* from human and other sources in New Zealand. Epidemiolog. Infect., Cambridge, v. 106, n. 1, p. 17-23, 1990.
37. HINSHAW, W. R.; McNEIL, E.; TAYLOR, T. J. Types of *Salmonella* isolated and their relation to public health. Am. J. Hyg., Baltimore, v. 40, p. 264-278, 1944.

38. HINTON, M.; PEARSON, G. R.; THRELFALL, E. J.; ROWE, B.; WOODWARD, M.; WRAY, C. Experimental *Salmonella enteritidis* infection in chicks. Vet. Rec., London, v. 124, p. 223, 1988.
39. HOFER, E. Epidemiologia da salmonelose: incidência de sorotipos de *Salmonella* em aves e rações (matérias-primas) no período de 1966 a 1984. In: SIMPÓSIO CATARINENSE DE SANIDADE AVÍCOLA (1.:1985:Chapecó) e SIMPÓSIO DO CENTRO NACIONAL DE PESQUISA DE SUÍNOS E AVES (4.:1985:Chapecó-SC). Anais. Chapecó. 1985. 110-124.
40. HOPPER, S. A.; MAWER, S. *Salmonella enteritidis* in a commercial layer flock. Vet. Rec., London, v. 123, p. 351, 1988.
41. IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo Demográfico. Resultados Preliminares, 1991 (não publicado).
42. JOHN-BROOKS, ST. R. The genus *Salmonella* Lignières, 1900. J. Hyg., Cambridge, v. 34, p. 333-347, 1934.
43. KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; DOWELL, V. R.; SOMMERS, H. M. Enterobacteriaceae. In: \_\_\_\_\_. Diagnóstico microbiológico. Buenos Aires : Editorial Medica Panamericana, 1983. p. 152-199.
44. LAHELLEC, C.; COLIN, P.; BENNEJEAN, G.; PAQUIN, J.; GUILLERM, A.; DEBOIS, J. C. Influence of resident *Salmonella* on contamination of broiler flocks. Poult. Sci., Champaign, v. 65, n. 11, p. 2034-2039, 1986.

45. LAKHOTIA, R. L.; STEPHENS, J. F. Incidence of drug resistance and R-factor among *Salmonellae* isolated from poultry. Poult. Sci., Champaign, v. 52, p. 2266-2270, 1973.
46. LAURSEN-JONES, A. P. Blindness in chicks associated with *Salmonella typhimurium* infection. Vec. Rec., London, v. 83, p. 205, 1968.
47. LEE, J. A. Recent trends in human salmonellosis in England and Wales: the epidemiology of prevalent serotypes other than *Salmonella typhimurium*. J. Hyg., Cambridge, v. 72, p. 185-195, 1974.
48. LE MINOR, L. *Salmonella*. In: LÉON LE MINOR; MICHEL VÉRON. Bactériologie Médicale. Chevilly-Larue: Flammarion Médecine-Sciences, 1982. p. 259-274.
49. LE MINOR, L. Genus 111. *Salmonella* Lignières, 1900. In: BERGEY'S Manual of Systematic Bacteriology. 9. ed. Baltimore : Williams & Wilkins, 1984. p. 427-458.
50. LISTER, S. A. *Salmonella enteritidis* infection in broilers and broiler breeders. Vet. Rec., London, v. 123, p. 350, 1988.
51. MACHADO, J.; BERNARDO, F. Prevalence of *Salmonella* in chicken carcasses in Portugal. J. Appl. Bacteriol., Oxford, v. 69, n. 4, p. 477-480, 1990.
52. McBRIDE, M. D.; HIRD, D. W.; CARPENTER, T. E.; SNIPES, K. P.; DANAYE-ELMI, C.; UTTERBACK, W. W. Health survey of backyard poultry and other avian species located whithin one mile of commercial California meat-turkey flocks. Avian Dis., Pennsylvania, v. 35, n. 2, p. 403-407, 1991.

53. McLLROY, 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. Vet. Rec., London, v. 125, n. 22, p. 545-548, 1989.
54. MALLINSON, E. T.; SNOEYENBOS, G. H. Salmonellosis. In: PURCHASE, H. G. A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens. 3. ed. Pennsylvania: The American Association of Avian Pathologists, 1989. p. 3-11.
55. MARTIN, W. J.; WASHINGTON 11, J. A. Enterobacteriaceae. In: LENNETTE, E. H. Manual of Clinical Microbiology. 3. ed. Washington : American Society for Microbiology, 1980, p. 195-219.
56. MORAN, A. B. *Salmonella* in animals : a report for 1957. Avian Dis., Pennsylvania, v. 3, p. 85-88, 1959.
57. MORAN, A. B. *Salmonella* and *Arizona* cultures of animal origin: 1958. Avian Dis., Pennsylvania, v. 4, n. 1, p. 73-78, 1960.
58. MORSE, E. V.; DUNCAN, M. A. Salmonellosis - an environmental health problem. J. Amer. Vet. Med. Ass., Schaumburg, v. 165, n. 11, p. 1015-1019, 1974.
59. NURMI, E.; RANTALA, M. New aspects of *Salmonella* infection in broiler production. Nature, New York, v. 241, p. 210-211, 1973.
60. O'BRIEN, J. D. P. *Salmonella enteritidis* infection in broiler chickens. Vet. Rec., London, v. 122, p. 214, 1988.

61. PADRON, M. *Salmonella typhimurium* outbreak in broiler chicken flocks in Mexico. Avian Dis., Pennsylvania, v. 34, p. 221-223, 1990.
62. PAVIA, A. T.; SHIPMAN, L. D.; WELLS, J. G.; PUHR, N. D.; DAVID SMITH, J.; MCKINLEY, T. W.; TAUXE, R. Epidemiologic evidence that prior antimicrobial exposure decreases resistance to infection by antimicrobial-sensitive *Salmonella*. J. Infect. Dis., Chicago, v. 161, n. 2, p. 255-260, 1990.
63. PELLUFO, C. Salmoneloses. In: VERONESI, R. Doenças infecciosas e parasitárias. 6. ed. Rio de Janeiro : Guanabara-Koogan, 1976. p. 392-399.
64. PERRY, S. C.; HERBERT, T. J.; BRAEMER, A. C. The effect of furazolidone on artificially induced *Salmonella typhimurium* and *Salmonella gallinarum* infection in chickens. Poult. Sci., Champaign, v. 51, n. 5, p. 1645-1649, 1972.
65. POCURULL, D. W.; GAINES, S. A.; DWIGHT-MERCER, H. Survey of infectious multiple drug resistance among *Salmonella* isolated from animals in the United States. Appl. Microbiol., New York, v. 21, n. 2, p. 358-362, 1971.
66. POMEROY, B. S. Fowl typhoid. In: HOFSTAD, M. S. Diseases of poultry. 7. ed. Ames: The Iowa State University Press, 1978. p. 100-117.
67. POMEROY, B. S. Fowl typhoid. In: HOFSTAD, M. S. Diseases of poultry. 8. ed. Ames: The Iowa State University Press, 1984, p. 79-91.

68. POPPE, C.; IRWIN, R. J.; FORSBERG, C. M.; CLAIRE, R. C.; OGGEL, J. The prevalence of *Salmonella enteritidis* and other *Salmonella* spp among Canadian registered commercial layer flocks. Epidemiol. Infect., Cambridge, v. 106, p. 259-270, 1991.
69. RAMPLING, A.; ANDERSON, J. R.; UPSON, R.; PETERS, E.; WARD, L. R.; RONE, B. *Salmonella enteritidis* phage 4 infection of broiler chickens: a hazard to public health. Lancet, London, v. 2, n. 8660, p. 436-438, 1989.
70. RAO, V.; CHAUAHAN, H. V. S. The pathology and pathogenesis of *Salmonella stanley* infection in experimental chicks. Res. Vet. Sci., London, v. 42, n. 3, p. 287-293, 1987.
71. REECE, R. L.; COLOE, P. J. The resistance to anti-microbial agents of bacteria isolated from pathological conditions of birds in Victoria, 1978 to 1983. Aust. Vet. J., Brunswick, v. 62, n. 11, p. 379-381, 1985.
72. REIS, J.; NÓBREGA, P.; BUENO, R. C.; REIS, A. S.; GIOVANNONI, M. Doenças de aves em São Paulo. Análise de 17.753 casos. Arq. Inst. Biol., São Paulo, v. 22, p. 119-160, 1955.
73. ROBERTS, D. Factors contributing to outbreaks of food poisoning in England and Wales, 1970-1979. J. Hyg., Cambridge, v. 89, p. 491-498, 1982.
74. ROBERTS, T. Salmonellosis control: estimated economic costs. Poult. Sci., Champaign, v. 67, p. 936-943, 1988.

75. RYAN, T. P. Salmonellosis in caged birds. Mod. Vet. Pract., Goleta, v. 66, n. 6, p. 383-384, 1985.
76. RYDER, R. W.; BLAKE, P. A.; MURLIN, A. C.; CARTER, G. P.; POLLARD, R. A.; MERSON, M. H.; ALLEN, S. D.; BRENNER, D. J. Increase in antibiotic resistance among isolates of *Salmonella* in the United States, 1967-1975. J. Infect. Dis., Chicago, v. 142, n. 4, p. 485-491, 1980.
77. SALLE, C. T. P.; SILVA, A. B. DA; FARIAS, M. T. *Salmonella gallinarum-pullorum* em galinhas (*Gallus domesticus*) no Rio Grande do Sul. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE AVICULTURA (5.: 1975: Porto Alegre). Anais. Porto Alegre, 1975, p. 159-65.
78. SALLE, C. T. P.; SILVA, A. B. DA; MORAES, H. L. S.; RODRIGUES, R. R.; MARTINS, N. R. S. Tifo-pulorose em galinhas examinadas em laboratório de 1972 a 1978: correlação entre plantéis reprodutores e comerciais. Boletim do Instituto de Pesquisas Veterinárias "Desidério Finamor", Guaíba, v. 6, p. 79-86, 1979.
79. SCHAR, R. D. Control of *Salmonella pullorum* and *gallinarum* under the national poultry improvement plant. In: CONGRESSO MUNDIAL DE AVICULTURA (16.: 1978: Rio de Janeiro). Anais. Rio de Janeiro, 1978, p. 886-895.
80. SCHLEIFER, J. H. A review of the efficacy and mechanism of competitive exclusion for the control of *Salmonella* in poultry. Wild. Poult. Sci. J., Terrick, v. 41, n. 1, p. 72-83, 1985.

81. SHIVAPRASAD, H. L.; TIMONEY, J. F.; MORALES, S.; LUCIO, B.; BAKER, R. C. Pathogenesis of *Salmonella enteritidis* infection in laying chickens. I. Studies on egg transmission, clinical signs, fecal shedding, and serologic responses. Avian. Dis., Pennsylvania, v. 34, p. 548-557, 1990.
82. SIDDIQUE, M.; BERGEA, I.; STRATULAT, G. Possible sources of *Salmonella* infection in poultry. Arch. Roum. Path. Exp. Microbiol., Bucarest, v. 42, n. 4, p. 225-260, 1983.
83. SILVA, E. N. Estudo microbiológico com especial referência à *Salmonella arizonae* e avaliação da transmissão pelo ovo. São Paulo, 1978.  
Tese (Doutorado) - Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.
84. SIMMONS, G. C.; BYRNES, R. V. The origin of *Salmonellas* in chickens and chicken carcasses. Aust. Vet. J., Brunswick, v. 48, p. 186-189, 1972.
85. SNOEYENBOS, G. H.; CARLSON, V. L.; McKIE, B. A.; SMYSER, C. F. An epidemiological study of salmonellosis of chickens. Avian. Dis., Pennsylvania, v. 11, p. 653-667, 1967.
86. SNOEYENBOS, G. H.; SMYSER, C. F.; VAN ROEKEL, H. *Salmonella* infections of the ovary and peritoneum of chickens. Avian. Dis., Pennsylvania, v. 13, n. 3, p. 668-670, 1969.
87. SNOEYENBOS, G. H. Pullorum disease. In: HOFSTAD, M. S. Diseases of poultry. 7. ed. Ames : The Iowa State University Press, 1978. p. 80-100.

88. SNOEYENBOS, G. H. Pullorum disease. In: HOFSTAD, M. S. Diseases of poultry. 8. ed. Ames : The Iowa State University Press, 1984. p. 66-79.
89. SOCKETT, P. N.; ROBERTS, J. A. The social and economic impact of salmonellosis. A report of a national survey in England and Wales of laboratory confirmed *Salmonella* infections. Epidemiol. Infect., Cambridge, v. 107, p. 335-347, 1991.
90. SOERJADI-LIEM, A. S.; CUMMINS, R. B. Studies on the incidence of *Salmonella* carriers in broiler flocks entering a poultry processing plant in Australia. Poult. Sci., Champaign, v. 63, p. 892-895, 1984.
91. SOJKA, W. J.; FIELD, H. I. Salmonellosis in England and Wales 1958-1967. Vet. Bull., Wallingford, v. 40, n. 7, p. 515-531, 1970.
92. SOJKA, W. J.; SLAVIN, G.; BRAND, T. F.; DAVIES, G. A survey of drug resistance in *Salmonellae* isolated from animals in England and Wales. Br. Vet. J., London, v. 128, n. 4, p. 189-198, 1972.
93. SOJKA, W. J.; WRAY, C.; HUDSON, E. B.; BENSON, J. A. Incidence of *Salmonella* infection in animals in England and Wales, 1968-73. Vet. Rec., London, v. 96, p. 280-284. 1975.
94. SPIEGEL, M. R. O teste de qui quadrado. In: \_\_\_\_\_. Estatística. 11. ed. São Paulo : MacGraw-Hill do Brasil, 1979. p. 331-361.

95. THAIN, J. A.; BLANDFORD, T. B. A long-term serological study of a flock of chickens naturally infected with *Salmonella pullorum*. Vet. Rec., London, v. 109, n. 7, p. 136-138, 1981.
96. TRABULSI, L. R. Salmoneloses. In: VERONESI, R. Doenças infecciosas e parasitárias. 5. ed. Rio de Janeiro : Guanabara-Koogan, 1972. 434 p.
97. TUCKER, J. F. Survival of *Salmonellae* in built-up litter for housing of rearing and laying fowls. Br. Vet. J., London, v. 123, p. 92-103, 1967.
98. VERNON, E.; TILLET, H. E. Food poisoning and *Salmonella* infections in England and Wales, 1969-1972. Public Hlth., London, v. 88, p. 225-235, 1974.
99. WALTMAN, W. D.; HORNE, A. M. Isolation of *Salmonella* from chickens reacting in the pullorum-typhoid agglutination test. Avian Dis., Pennsylvania, v. 37, p. 805-810, 1993.
100. WALTON, J. R. Salmonellosis. Br. Vet. J., London, v. 139, p. 185-191, 1983.
101. WIERUP, M.; WOLD-TROELL, M.; NURMI, E.; HAKKINEN, M. Epidemiological evaluation of the *Salmonella* controlling effect of a nationwide use of a competitive exclusion culture in poultry. Poult. Sci., Champaign, v. 67, p. 1026-1033, 1988.
102. WILLIAMS, J. E. Recent literature on detection of *Salmonellae* in poultry production flocks: a critical review. Avian Path., Houghton, v. 7, n. 1, p. 1-14, 1978.

103. WILLIAMS, J. E. Avian salmonellosis. In: HOFSTAD, M. S. Diseases of poultry. 8. ed. Ames : The Iowa State University Press, 1984. p. 65-66.
104. WILLIAMS, J. E. Prayphoid infections. In: HOFSTAD, M. S. Diseases of poultry. 8. ed. Ames : The Iowa State University Press, 1984. p. 91-140.
105. WILSON, G. S.; MILES, A. *Salmonella*. In: \_\_\_\_\_. Principles of Bacteriology, Virology and Immunity. 6. ed. Baltimore : The Williams & Wilkins, 1975, v. 1, p. 918-955.
106. WRAY, C. Is salmonellosis still a serious problem in veterinary practice? Vet. Rec., London, v. 116, p. 485-489, 1985.
107. YAGOUB, I. A.; MOHAMED, T. E. Isolation and identification of *Salmonella* from chickens in Khartoum province of the Sudan. Br. Vet. J., London, v. 143, n. 6, p. 537-540, 1987.
108. ZANCAN, G. T.; BACILA, M. Efeito do xilitol sobre a oxidação do manitol por *Salmonella gallinarum* e *Salmonella pullorum*. Arq. Biol. Tecn., São Paulo, v. 12, p. 187-192, 1966.