



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA

CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

CURSO DE BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO POR *SALMONELLA* SPP. EM OVOS
DE GALINHAS CAIPIRAS ORIUNDOS DE UMA COOPERATIVA DO
AGRESTE PARAIBANO**

Isis Daniele dos Santos Rocha

Areia- PB

2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO POR *SALMONELLA* SPP. EM OVOS
DE GALINHAS CAIPIRAS ORIUNDOS DE UMA COOPERATIVA DO
AGRESTE PARAIBANO**

Isis Daniele dos Santos Rocha

**Trabalho de conclusão de curso realizado e
apresentado como requisito parcial para a
obtenção do título de Bacharel em Medicina
Veterinária pela Universidade Federal da
Paraíba, sob orientação do Prof. Oliveiro
Caetano de Freitas Neto.**

Areia- PB

2017

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais Geraldo Rocha e Rita Rocha por todo incentivo, amor e dedicação. Dedico também aos meus irmãos Iranês e Ivanês por toda cumplicidade e confiança.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao meu Deus, o ser supremo que dá sentido a minha vida todos os dias, por me manter firme em busca dos meus objetivos.

Aos meus pais Rita Rocha e Geraldo Rocha, por toda dedicação, esforço, amor e companheirismo que dedicaram todos esses anos para me ver realizar um sonho de infância. Obrigada! Minha vida não teria sentido sem ter vocês junto a mim neste momento especial.

Aos meus irmãos Iranês e Ivanês por todo amor e afeto, por acreditarem em mim, na minha capacidade. Em especial a você Ivanês, que acreditou que eu conseguiria e me incentivou a realizar meu sonho. Obrigada por toda ajuda!

Aos meus avós maternos, José Francelino e Maria Amélia (*in memorian*) por toda educação, paciência, dedicação e amor.

Ao meu namorado Felipe Maia, que me ajudou e fortaleceu durante os anos de faculdade. Obrigada por toda amizade e companheirismo! A caminhada tornou-se mais fácil por te ao meu lado.

As minhas amigas que estão ao meu lado em todas as horas, em especial: Bebel, Mayanne, Luciana e Iêda.

Aos amigos e amigas que conheci durante o curso e aprendi admirar, em especial: Aline, Duda e Lanuza.

Aos mestres, por todo conhecimento transmitido.

Ao meu orientador Professor Dr. Oliveira Caetano, por toda paciência e conhecimento repassado.

Àqueles que direta ou indiretamente me ajudaram e me influenciaram chegar até aqui, muito obrigada!

“Cada um de nós compõe a sua história, cada ser em si carrega o dom de ser capaz e ser feliz.”

Almir Sater

RESUMO

ROCHA, Isis Daniele dos Santos, Universidade Federal da Paraíba, janeiro de 2017.

Avaliação da contaminação por *Salmonella* spp. em ovos de galinhas caipira oriundos de uma cooperativa do agreste paraibano. Orientador: Oliveiro Caetano de Freitas Neto.

Salmonella spp. é um dos patógenos mais comumente encontrados em infecções de origem alimentar em seres humanos. Ovos, alimentos contendo ovos e carne de aves são os principais veículos de transmissão do microrganismo, representando um desafio para saúde pública. Com o intuito de pesquisar a frequência de *Salmonella* spp. em ovos destinados ao consumo humano produzidos e processados em uma cooperativa de produtores de aves caipiras da mesorregião do agreste paraibano, conduziu-se o presente estudo. Foram analisados 240 ovos oriundos de duas propriedades de produtores cooperados por meio de exames microbiológicos convencionais. Os ovos foram coletados na sede da cooperativa localizada no município de São Sebastião de Lagoa de Roça e analisados no Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba. As amostras eram compostas por seis ovos, com conteúdo interno e casca, quebrados e homogeneizados em recipientes plásticos estéreis com tampa. Em seguida foram submetidas à bateria de exames bacteriológicos convencionais para isolamento de *Salmonella* spp. Não foi detectada a presença do microrganismo nas amostras de ovos examinadas. Frequências de *Salmonella* spp. em amostras de ovos, variando de 0,1 (lotes de aves com baixa frequência de infecção) a 10% (lotes de aves com problemas sanitários), foram descritas na literatura. No presente estudo a frequência de *Salmonella* spp. foi nula. Embora seja necessária a análise de um número maior de amostras, ao que tudo indica a contaminação por essa bactéria é baixa nos ovos oriundos propriedades amostradas. O que estaria possivelmente correlacionado a baixa prevalência de *Salmonella* spp. nos lotes de aves caipiras que originaram os ovos examinados.

Palavras-chave: Avicultura familiar, qualidade microbiológica, salmonelose.

ABSTRACT

ROCHA, Isis Daniele dos Santos, Universidade Federal da Paraíba, January de 2017.
Assessment of *Salmonella* spp. contamination in eggs of free-range chickens from a cooperative from the agreste paraibano. Supervisor: Oliveira Caetano de Freitas Neto.

Salmonella spp. is one of the pathogens most commonly found in food-borne infections in humans. Eggs, egg-containing foods and poultry meat are frequently involved in human salmonellosis outbreaks, posing a challenge to the public health authorities. In order to investigate the frequency of *Salmonella* spp. in eggs destined for human consumption produced and processed in a cooperative of poultry farmers of the mesoregion of the agreste region of Paraíba, the present study was carried out. A total of 240 eggs from two cooperative producers' properties were analyzed by means of conventional microbiological examinations. The eggs were collected at the headquarters of the cooperative located in the county of São Sebastião de Lagoa de Roça and analyzed at the Laboratory of Preventive Veterinary Medicine of the Center of Agricultural Sciences of the Federal University of Paraíba. The samples were composed of six eggs, with internal contents and shell, broken and homogenized in sterile plastic containers with lid. They were then submitted to a battery of conventional bacteriological tests for the isolation of *Salmonella* spp. The presence of the microorganism was not detected in the egg samples examined. Frequencies of *Salmonella* spp. in samples of eggs, ranging from 0.1 (flocks of birds with low frequency of infection) to 10% (flocks with sanitary problems), were described in the literature. In the present study the frequency of *Salmonella* spp. was zero. Although it is necessary to analyze a larger number of samples, it seems that the contamination by this bacterium is low in the eggs from the sampled properties. This could possibly be correlated with the low prevalence of *Salmonella* spp. in the flocks of chickens that were sampled.

Key-words: Family poultry farming, microbiological quality, salmonellosis.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 Gênero <i>Salmonella</i>	12
2.2 Salmonelose: importância mundial e saúde pública	13
2.3 Epidemiologia	14
2.4 Patogenia	15
2.5 Prevenção e controle de <i>Salmonella</i> spp. na criação de aves.....	16
3 OBJETIVOS	18
3.1 Objetivo geral.....	18
4 MATERIAL E MÉTODOS	19
4.1 Coleta e amostragem	19
4.2 Análise microbiológica	19
4.2.1 Enriquecimento seletivo	20
4.2.2 Semeadura em placas	20
4.2.3 Testes bioquímicos presuntivos	20
4.2.4 Teste sorológico	20
5 RESULTADO E DISCUSSÃO	21
6 CONCLUSÃO	23
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24

1 INTRODUÇÃO

Em 2015 a produção e o consumo de ovos aumentaram significativamente, sendo produzidas 39 bilhões de unidades e um consumo de 191 unidades por habitantes, constituindo um percentual de 99% para o mercado interno e 1% destinados a exportação (ABPA, 2016).

A produção de ovos em especial do caipira, é considerada por Sedoski et al., (2012) como alternativa de renda para as famílias de pequenos produtores, além de ser um alimento acessível, com elevado valor nutricional. É um alimento rico em aminoácidos essenciais, vitaminas (K e D), minerais, ácidos graxos.

Levando em consideração o crescimento do setor avícola nos últimos anos, incluindo a produção de aves caipira, e sua importância para a economia brasileira, é necessário que ocorra constante vigilância e controle dos principais patógenos que ofereçam riscos à saúde animal e pública, incluindo os microrganismos do gênero *Salmonella* spp. (CARDOSO & TESSARI, 2008).

Atualmente existem mais de 2.600 sorotipos de *Salmonella* identificados, com cerca de 200 isolados de aves, sendo *Salmonella* Enteritidis, *S. Typhimurium*, *S. Infantis*, *S. Hadar* e *S. Virchow*, os principais causadores de infecção alimentar em humanos (CDC, 2016).

Salmonella spp. são bactérias anaeróbias facultativos, intracelulares, capazes de infectar uma grande variedade de animais. A ave é um dos importantes reservatórios de *Salmonella* spp., o que favorece a contaminação da carne de frango e ovos, conseqüentemente, oferecendo risco ao consumidor desses produtos (BARANCELLI et al., 2012).

A infecção por *Salmonella* spp. causa sintomas como febre, dores abdominais, vômito e diarreia, que se manifestam de 12 a 36 horas após o consumo de alimentos contaminados, com duração de 1 a 4 dias, nem sempre é necessário o uso de antibióticos para recuperação. Porém, em recém-nascidos, crianças e indivíduos com imunodeficiência, *Salmonella* pode provocar bacteremia e meningite, sendo nesses casos, necessária a antibioticoterapia (BARANCELLI et al., 2012).

Considerando os recorrentes relatos de surtos provocados por *Salmonella* após o consumo de ovos e seus subprodutos no Brasil e no mundo, se faz necessária a realização de monitoramento e adoção de medidas de controle sanitário com intuito de minimizar sua contaminação (BERCHIERI JUNIOR & FREITAS NETO, 2009).

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a presença da *Salmonella* spp. por meio do isolamento bacteriológico convencional em ovos caipiras provenientes da Cooperativa Paraibana de Avicultura e Agricultura Familiar (COPAF), localizada no município de Lagoa de Roça.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Gênero *Salmonella*

Os micro-organismos do gênero *Salmonella* pertencem à família *Enterobacteriaceae*, são bastonetes Gram-negativos, não esporulados, aeróbicos ou anaeróbicos facultativos. Em sua grande maioria são móveis, devido à presença de flagelos peritríquios, embora os biotipos Pullorum e Gallinarum sejam imóveis (SHIVAPRASAD, 2000; GAST, 2008; BERCHIERI JUNIOR & FREITAS NETO, 2009).

Os membros do gênero *Salmonella* fermentam a glicose e outros açúcares e descarboxilam aminoácidos (lisina e ornitina); multiplicam em caldo nutriente simples e em meios seletivos (caldo ou ágar) para enterobactérias, como caldo selenito e ágar verde brilhante. O ambiente ideal para a multiplicação desses micro-organismos varia entre 35 - 43°C e pH entre 7,0 e 7,5 (BERCHIERI JUNIOR & FREITAS NETO, 2009).

O gênero *Salmonella* é composto por duas espécies, *Salmonella enterica* e *Salmonella bongori*, sendo que a espécie *enterica* é dividida em seis subespécies: *S. enterica* subsp. *enterica*, *S. enterica* subsp. *salamae*, *S. enterica* subsp. *arizonae*, *S. enterica* subsp. *diarizonae*, *S. enterica* subsp. *houtenae* e *S. enterica* subsp. *indica* (GRIMONT & WEILL, 2007). Atualmente estão descritos mais de 2600 sorotipos, dos quais, 1547 encontram-se na subsp. *enterica* (GUIBOURDENCHE et al., 2010). Entre eles, estão os principais causadores das salmoneloses aviárias e cerca de 90 estão envolvidos em infecções alimentares em humanos (BERCHIERI JUNIOR & FREITAS NETO, 2009). Na classificação atual, os biotipos Pullorum e Gallinarum por terem suas fórmulas antigênicas semelhantes, são considerados variantes do sorotipo *S. Gallinarum* (antígenos somáticos O: 1, 9, 12) (GRIMONT & WEILL, 2007).

A nomenclatura do gênero segue o esquema proposto por Popoff, Bockemühl e Hickman-Brenner (1996). Assim, para exemplificar, o biotipo SG deve ser descrito como: *Salmonella enterica* subspécie *enterica* sorotipo Gallinarum biotipo Gallinarum, ou de forma simplificada *Salmonella* Gallinarum (*S. Gallinarum*) (BRENNER et al., 2000; GRIMONT & WEILL, 2007).

2.2 Salmonelose: importância mundial e em saúde pública

A salmonelose é uma zoonose importante que se apresenta como um desafio para as autoridades sanitárias. Os veículos mais frequentes envolvidos em sua transmissão são alimentos amplamente consumidos pela população humana, incluindo ovos e seus derivados e a carne de aves (KOTTWITZ et al., 2008).

No Brasil, de acordo com o Serviço de Vigilância em Saúde, entre 2000 e 2015, 10.666 surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) foram registrados, acometendo 209.240 pessoas e levando a 155 óbitos. Setenta e cinco por cento das notificações se deram nas regiões Sul e Sudeste, seguido pela região Nordeste com 14% dos casos. Desse total, *Salmonella* spp. foi responsável por 14,4% das notificações, sendo ovos e produtos a base de ovos os causadores de 7,8% das DTA (BRASIL, 2015).

Desde o final da década de 1970, surtos de enfermidades transmitidas por alimentos causados por *Salmonella* Enteritidis como o sorotipo mais predominante, passaram a ser relatados nos Estados Unidos e em vários países da Europa (DUIJKEREN et al., 2002).

Nos EUA, estima-se a ocorrência anual de 142.000 casos de salmoneloses devido ao consumo de ovos contaminados, representando um importante problema de saúde pública. O número real de casos, entretanto, pode ser ainda maior, uma vez que a identificação do agente etiológico nem sempre é possível em muitos dos surtos de infecção alimentar (BARANCELLI et al., 2012).

Estudos têm demonstrado que surtos e casos de infecção alimentar estão aumentando tanto em países desenvolvidos como nos países em desenvolvimento, sendo *Salmonella* Enteritidis o principal agente causador (CARDOSO & CARVALHO, 2006). No Brasil, esse sorotipo emergiu como grande problema de saúde pública a partir da década de 1990, quando surgiram os primeiros relatos de infecção alimentar causada pelo consumo de produtos avícolas. Desde então, ovos têm sido a fonte mais comum de infecções humanas por *Salmonella* Enteritidis (GAMA, 2001; BRASIL, 2009; GANTOIS et al., 2009).

Esse sorotipo apresenta propriedades intrínsecas que lhe permitem uma interação particular com o trato reprodutor de aves e alguns componentes do ovo. Por não possuir um hospedeiro específico, a infecção de galinhas por *Salmonella* Enteritidis geralmente é silenciosa, sem sinais de morbidade e mortalidade (GUARD-PETTER, 2001; GANTOIS et al., 2009).

A salmonelose é uma das bacterioses de maior impacto em saúde pública no mundo, devido à alta taxa de morbidade, elevada endemicidade, e pela dificuldade de controle. Além disso, ocasiona maior número de óbitos quando comparado às infecções alimentares causadas por outros microrganismos (SANTOS et al, 2002).

2.3 Epidemiologia

Salmonella spp. possuem uma epidemiologia muito complexa, pois a origem da contaminação dos alimentos pode ocorrer por duas vias. Alimentos de origem animal podem conter esses microrganismos já na sua origem, visto que animais com infecções subclínicas ou portadores assintomáticos de *Salmonella* spp. podem carrear este agente para os alimentos a que dão origem. Bem como, os alimentos podem ser contaminados através de equipamentos, manipuladores, roedores, insetos ou por contaminação cruzada com outros alimentos (CARDOSO & CARVALHO, 2006).

Para fins epidemiológicos, as salmonelas podem ser divididas em três grupos:

Sorotipos que afetam ao homem (i), como *Salmonella* Typhi, *S. Paratyphi* A, *Salmonella* Paratyphi B e *Salmonella* Paratyphi C. Este grupo inclui os agentes causadores da febre tifóide e paratifoide, que são as doenças mais severas causadas por essa bactéria. A febre tifóide é caracterizada por um período longo de incubação, desenvolvimento em altas temperaturas corporais e alta taxa de mortalidade se não for tratada. A *Salmonella* Typhi pode ser isolada do sangue e algumas vezes da urina. Estes sorotipos não são patogênicos para os animais.

Sorotipos altamente adaptados a animais (ii) como *Salmonella* Gallinarum (aves), *Salmonella* Dublin (bovinos), *Salmonella* Abortus-equi (cavalos), *Salmonella* Abortus-ovis (ovinos) e *Salmonella* Choleraesuis (suínos). Sorotipos ubíquos (iii), como *Salmonella* Typhimurium, que afetam tanto os homens como os animais e causam infecções gastrointestinais de severidade variável, sendo transmitidos na maioria das vezes por alimentos (PAULA, 2002).

De acordo com as caracterizações realizadas por Jay (2005), ovos podem ser contaminados por *Salmonella* spp. pelas vias: transovariana, na qual ocorre translocação da bactéria do peritônio para a gema ou oviduto, pela cloaca onde há penetração de microrganismos provenientes das fezes durante passagem do ovo pela cloaca. Também podem ocorrer contaminação do ovo pelos manipuladores de alimentos (CARVALHO, 2010).

Salmonella spp. é eliminada em elevada quantidade nas fezes, contaminando o solo e a água. A sobrevivência no meio ambiente pode ser longa, em particular na matéria orgânica. Pode permanecer viável no material fecal por longos períodos, particularmente em fezes secas, podendo resistir mais de 28 meses nas fezes de aves, 30 meses no estrume bovino, 280 dias no solo cultivado e 120 dias na pastagem, sendo ainda encontrada em efluentes de água de esgoto, como resultado de contaminação fecal (BRASIL, 2011).

Os produtos agrícolas não processados, como hortaliças e frutas, e os alimentos de origem animal, como as carnes cruas, o leite e os ovos também podem veicular *Salmonella* spp. (BRASIL, 2011).

2.4 Patogenia

Os microrganismos patogênicos possuem e expressam genes que codificam fatores de virulência conferindo à bactéria habilidade de provocar doença (VIEIRA, 2009). A dose infectante pode variar entre 10^5 e 10^8 células, todavia, em pacientes imunodeprimidos doses $\leq 10^3$ tem sido observados para alguns sorotipos envolvidos em surtos de doenças de transmissão alimentar (BRASIL, 2011).

Dependendo do sorotipo envolvido, da quantidade do inóculo, dos fatores de virulência expressos pelo agente e da imunidade do hospedeiro, *Salmonella* pode ocasionar desde uma infecção gastrointestinal branda até uma infecção sistêmica. No entanto, para ser capaz de desenvolver doença, é necessário que esta se encontre em ambiente adequado, para que possa se estabelecer e replicar (OCHOA & RODRÍGUEZ, 2005).

Os microrganismos entram por via oral, invadem a mucosa intestinal e se disseminam para a submucosa, resultando em enterocolite aguda. Seu transporte, através do sistema retículo endotelial, aliado à capacidade de multiplicação no interior dos macrófagos, possibilita sua manutenção e disseminação no organismo (BRASIL, 2011).

A ligação do agente com a célula hospedeira ativa sinalizadores celulares, de uma forma direta por componentes bacterianos ou por estimulação de fatores ativadores do próprio hospedeiro, como as citocinas. Estes ativadores podem alterar a superfície da célula hospedeira, modificando os receptores celulares. Por sua vez, o patógeno responde a esta modificação alternando o tipo de adesina apresentada. Logo, o receptor que uma adesina

reconhecer, irá determinar sua especificidade por algum tecido e a colonização ou a persistência bacteriana (OCHOA & RODRÍGUEZ, 2005).

Ainda para Ochoa & Rodriguez (2005), as adesinas podem ser classificadas em dois grandes grupos, adesinas fimbriais e não fimbriais. Em geral, as adesinas presentes em bactérias Gram-negativas são as fímbrias, pili, flagelo, lipopolissacarídeo (LPS) e cápsula. Segundo Oliveira et. al (2013), *Salmonella* spp. apresenta uma grande variedade de fímbrias que possuem tropismo por receptores celulares de tipos diferentes.

2.5 Prevenção e controle de *Salmonella* spp. na criação de aves

Os programas de prevenção e controle das infecções provocadas por salmonelas contemplam várias medidas coordenadas aplicadas simultaneamente (GAST, 1997), com o objetivo de evitar a transmissão vertical e horizontal da bactéria (BERCHIERI JÚNIOR & FREITAS NETO, 2009).

Segundo McILROY et al. (1989), o risco de transmissão vertical pode ser minimizado pela monitoria de lotes de matrizes testados por métodos bacteriológicos e sorológicos, resultando em aves livres de *Salmonella* spp. Ainda pela aquisição de linhagens de aves de produção mais resistentes à infecção por *Salmonella* spp. (BUMSTEAD, 2000); por medidas como a eliminação de aves portadoras da bactéria; por tratamento dos ovos ainda no galpão e cuidados na incubação de ovos sujos e trincados (BERCHIERI JÚNIOR & FREITAS NETO, 2009).

A biossegurança e o manejo sanitário das aves constituem-se em importantes programas para redução de salmonelas no ambiente. Conforme GAST (1997), um dos métodos empregados é a limpeza e desinfecção do galpão, através do uso de desinfetantes químicos. Porém, nem todos são eficientes e dependem, por exemplo, de como se comportam na presença de grandes quantidades de material orgânico (BERCHIERI JÚNIOR & BARROW, 1996). Aliado a isso, salienta-se o controle de roedores, presentes nos galpões de aves e responsáveis por importante papel na epidemiologia da infecção por *Salmonella* spp., ao contaminar o ambiente e transmitir a bactéria para aves e ovos (HENZLER & OPITZ, 1992).

Procedimentos específicos visando ao controle de salmonelas em rações de aves incluem a peletização e aplicação de ácidos orgânicos (SILVA, 2005). Segundo Gama (2001),

como a peletização da ração é realizada em temperatura superior a 60° C, o processo pode eliminar *Salmonella* spp. da ração, desde que não ocorra recontaminação pelo manuseio, por ratos ou insetos. IBA & BERCHIERI (1995), verificaram que a mistura de ácido fórmico e propiônico na ração de aves foi eficaz no controle de *Salmonella* Typhimurium em ração contaminada artificialmente.

O uso indiscriminado de antibióticos e a adição de promotores de crescimento em rações animais contribuíram para a emergência da resistência entre estirpes de *Salmonella* e de outras bactérias (BERCHIERI JÚNIOR & BARROW, 1998). Além disso, segundo BARROW (1999), após a retirada do agente terapêutico, pode ocorrer um período no qual as aves podem se tornar suscetíveis à infecção por *Salmonella*, porque a microbiota normal, por si própria inibitória para *Salmonella*, também é afetada pelo uso do antibiótico.

A exclusão competitiva consiste na inoculação oral do conteúdo cecal de aves adultas saudáveis em pintinhos recém-nascidos, acelerando o processo de instalação da microbiota intestinal desejável (NURMI & RANTALA, 1973). Desse modo, dificulta-se que microrganismos patogênicos se instalem na mucosa intestinal, sendo este método importante no controle da infecção por salmonelas em aves com microbiota intestinal imatura ou debilitada (antibioticoterapia).

Outra medida para prevenção e controle de *Salmonella* spp. consiste na vacinação de aves suscetíveis (GAST, 1997). Atualmente, várias pesquisas têm sido realizadas com o objetivo de analisar a eficácia do uso de vacinas vivas (BARROW et al., 1991;) e inativadas (TIMMS et al., 1990; GAST et al., 1993; NAKAMURA et al.,1994; MIYAMOTO et al.,1999; WOODWARD et al., 2002). Isso resulta na aplicação deste método de controle, que pode ser utilizado de maneira segura e eficaz como parte do programa de prevenção da infecção em aves e contaminação dos ovos por *Salmonella* spp. (GAST et al. 1992).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a presença de *Salmonella* spp. em amostras de ovos caipiras destinados ao consumo humano oriundos de uma cooperativa do agreste paraibano, por meio de análise microbiológica convencional.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Coleta e amostragem

Os ovos caipiras destinados ao consumo foram coletados em uma cooperativa na mesorregião do agreste paraibano, sendo identificados pelas iniciais de cada produtor (N e A). Foram realizadas seis coletas, uma por semana, de acordo com a produção, recebimento semanal e distribuição dos produtos (Tabela 1). As coletas foram realizadas de 12 de setembro a 17 de outubro de 2016.

Tabela 1. Valores amostrais com base no número de ovos caipiras recebidos semanalmente para distribuição.

	PRODUTOR “A”	PRODUTOR “N”	TOTAL
Número de ovos produzidos semanalmente	4.900	2.500	7.400
Número de ovos coletados (total)	120	120	240
Total de amostras (pool 6 ovos)	20	20	40

O experimento foi desenvolvido no laboratório de medicina veterinária preventiva do Hospital Veterinário da Universidade Federal da Paraíba – UFPB, Campus II. O processamento das amostras foi realizado no mesmo dia da coleta.

4.2. Análise microbiológica

As amostras eram compostas por seis ovos, com conteúdo interno e casca, quebrados e homogeneizados em recipientes plásticos descartáveis e estéreis. Essas amostras eram incubadas a 37°C durante 24 horas. Em seguida, procedeu-se a etapa de enriquecimento seletivo.

4.2.1. Enriquecimento seletivo

Transferiu-se, de cada recipiente plástico, 2,0 ml para tubos contendo 20 ml de caldo Selenito (Oxoid® CM 8395), ao qual foi acrescido 0,2 ml de novobiocina (0,004%) e 0,2 ml para tubos contendo 20 ml de caldo Rappaport- Vassiliadis (Oxoid® CM 669), também acrescidos de 0,2 ml de novobiocina (0,004%). Estes tubos eram incubados a 37° durante 24 horas.

4.2.2. Semeadura em placas

De cada tubo, após o enriquecimento seletivo, foram retiradas alíquotas para serem semeadas em placas contendo ágar Verde Brilhante (Oxoid® CM 0263) e ágar MacConkey, sendo estas placas incubadas a 37° durante 24 horas.

4.2.3. Testes bioquímicos presuntivos

Colônias não fermentadoras de lactose foram transferidas para ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI) (Oxoid® CM 277) inclinado e ágar Lisina Ferro (LIA) (Oxoid® CM381) inclinado, incubados a 37°C por 24 horas.

4.2.4. Teste sorológico

Aquelas colônias com resultados considerados sugestivos para *Salmonella* no “TSI” e no “LIA” foram submetidas ao teste de aglutinação em lâmina. Para esse teste utilizou-se o soro polivalente anti-*Salmonella* somático (O) (Probac do Brasil) e o soro polivalente anti-*Salmonella* flagelar (H) (Probac do Brasil).

5 RESULTADO E DISCUSSÃO

A produção de ovos é uma alternativa viável de renda e alimento para os pequenos, médios e grandes produtores. No entanto, a contaminação de ovos por microrganismos potencialmente patogênicos para seres humanos, como *Salmonella* spp., é um problema conhecido mundialmente. No Brasil, existem poucos levantamentos a respeito de *Salmonella* spp. em ovos, sendo a frequência de isolamento variável entre os estudos disponíveis (FREITAS NETO et al., 2014; OLIVEIRA & TAHAM, 2011; LANGONI et al., 1995).

A contaminação de ovos depende de fatores como higiene do local em que são estocados, da manipulação após a postura e, principalmente, da condição sanitária do lote de aves produtoras (BERCHIERI JUNIOR & FREITAS NETO, 2009). Geralmente, a contaminação ocorre durante o processo de formação do ovo no ovário ou durante sua passagem pela cloaca (OLIVEIRA & TAHAM, 2011; BERCHIERI JUNIOR & FREITAS NETO, 2009).

O ovo possui barreiras físicas e químicas que inviabilizam a contaminação por bactérias presentes no ambiente. Neste caso, *Salmonella* spp. conseguem atravessar a casca e as membranas se as mesmas não estiverem íntegras (BARANCELI et al., 2012; JAY, 2005).

No presente estudo, das 40 amostras contendo 240 ovos caipiras analisadas, nenhuma apresentou *Salmonella* spp. Estes resultados estão de acordo com os Leite et al. (2016), que analisaram 15 amostras de ovos caipiras provenientes de um abatedouro no interior da Paraíba e também não encontraram *Salmonella* spp.

Mottin et al. (2016) analisaram 60 amostras de ovos de granja e caipira de um município no interior da Bahia e Baú et al. (2001) avaliaram 94 amostras de ovos, provenientes de Pelotas no estado do Rio Grande do Sul, e também não detectaram *Salmonella* spp., corroborando com os resultados do presente estudo.

A avaliação do grau de contaminação microbiana de ovos provenientes de criação caipira e de granja de produção comercial feita por Vaz et al. (2012) demonstrou que nos 120 ovos avaliados, obtidos de cinco dias diferentes de postura, o grau de contaminação por microrganismos indicadores foi mais elevado nos ovos oriundos de criação do tipo caipira do que nos de produção comercial. Entretanto, *Salmonella* spp. não foi isolada de nenhuma amostra.

Melo et al. (2015) avaliaram a qualidade de ovos produzidos em agroindústrias familiares que adotaram o sistema de “Boas Práticas de Produção”. No total, 280 amostras de

ovos foram analisadas para pesquisa de *Salmonella* spp, contagem de mesófilos aeróbios viáveis, detecção de coliformes totais e fecais, sendo que nenhuma amostra apresentou resultado positivo para pesquisa de *Salmonella* spp.

No entanto, em estudo realizado por Campello (2012), que avaliou a presença de *Salmonella* spp. em ovos brancos de quatro estabelecimentos da cidade de Jaboticabal, 1,47% (5 das 340 amostras) das amostras examinadas apresentaram contaminação por *Salmonella* spp.

Níveis superiores de contaminação por *Salmonella* spp. foram encontrados por Oliveira & Silva (2000) que analisaram 124 amostras, detectando contaminação em 3,2% das gemas e 9,6% das cascas de ovos destinados ao consumo examinados no estado de São Paulo. Flores et al. (2003) também detectaram *Salmonella* spp. em 10% do total de 360 amostras de ovos oriundos da produção colonial de 10 propriedades rurais. Resultado semelhante foi obtido por Andrade et al. (2004), ao analisarem 40 amostras de ovos caipiras comercializados em postos vendas de Goiás dos quais isolaram *Salmonella* spp em 4 amostras. Langoni et al. (1995) examinaram ovos comerciais no município de Botucatu, São Paulo e encontraram 3,92% de positividade para *Salmonella* spp. das amostras. Enquanto que Oliveira & Taham (2011) obtiveram 100% de positividade em seis amostras de ovos de granjas industriais do Distrito Federal.

De forma geral, os resultados obtidos no presente estudo são semelhantes aos encontrados em outros estudos realizadas no Brasil. Ao que tudo indica, as propriedades produtoras ovos caipiras amostradas apresentam lotes com baixos níveis de contaminação por *Salmonella* spp. No entanto, vale salientar que são necessários novos estudos envolvendo um número mais elevado de amostras e também ovos de outras propriedades também filiadas à cooperativa.

6 CONCLUSÃO

Nas condições em que o presente estudo foi realizado, pode-se concluir que os ovos de aves caipiras examinados não apresentaram contaminação por *Salmonella* spp.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório anual 2016**, P. 4 e 5, 2016. Disponível em: <www.abpa-br.com.br>. Acesso em 24 de outubro de 2016.
- ANDRADE, M. A., CAFÉ, M. B., JAYME, V. S., ROCHA, P. T., LEANDRO, N. S. M., STRINGHINI, J. H. Avaliação da qualidade bacteriológica de ovos de galinha comercializados em Goiânia. Goiás. Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v.5, n. 4, p.221-228, 2004.
- BARANCELLI, G.V. et al. *Salmonella* em ovos: relação entre produção e consumo seguro. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, v.19, n.2, p.73-82. 2012.
- BARROW, P. A.; LOVELL, M. A.; BERCHIERI, A. J. The use of two live attenuated vaccines to immunize egg-laying hens against *Salmonella enteritidis* phage type 4. **Avian Pathology**, Huntingdon, v. 20, n. 4, p. 681-692, 1991.
- BARROW, P. A. *Salmonella* infections in poultry – problems and new thoughts on the possibilities of control. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, SP, v. 1, p. 9-16, 1999.
- BAÚ A. C.; CARVALHAL, J. B.; ALEIXO, J. A. G.. Prevalência de *Salmonella* em produtos de frango e ovos de galinha comercializados em Pelotas-RS, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 2, p. 303-307, 2001.
- BERCHIERI JÚNIOR, A.; BARROW, P. A. Reduction in incidence of experimental fowl typhoid by incorporation of a commercial formic acid preparation into poultry feed. **Poultry Science**, Champaign, v. 75, n. 3, p. 339-341, 1996.
- BERCHIERI JUNIOR, A.; FREITAS NETO, O. C. Salmoneloses aviárias. In: BERCHIERI JUNIOR, A.; SILVA, E. N.; DI FÁBIO, J.; SESTI, L.; ZUANAZE, M. A. F. **Doenças das aves**. 2. ed. Campinas: FACTA, 2009. Seção 4, p. 435-454.
- BUMSTEAD, N. Mecanismos genéticos de resistência a doenças. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2000, Campinas, **Anais...**, Campinas, FACTA, 2000, p. 25-30.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Manual técnico de diagnóstico laboratorial de *Salmonella* spp-2011. Disponível em: <<http://u.saude.gov.br/images/pdf/2014/dezembro/15/manual-diagnostico-salmonella-spp-web.pdf>>. Acesso: 01 de novembro de 2016.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde - SVS. 2015. Disponível em: <<http://u.saude.gov.br/images/pdf/2015/novembro/09/Apresentacao-dados-gerais-DTA-2015.pdf>>. Acesso em 01 de novembro de 2016.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde – SVS. Análise epidemiológica dos surtos de doenças transmitidas por alimentos no Brasil – 1999-2009. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/analise_ep_surtos_dta_brasil_2009.pdf>. Acesso em 21 de janeiro de 2017.

BRENNER, F. W.; VILLAR, R. G.; ANGULO, F. J.; TAUXE, R.; SWAMINATHAN, B. *Salmonella* Nomenclature. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 38, n. 7, p. 2465-2467, 2000.

CAMPELLO, P. L. ***Salmonella* spp. Em ovos brancos para consumo humano**. 2012. 130 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista “Julho De Mesquita Filho”, São Paulo - SP, 2012.

CARDOSO, T. G.; CARVALHO, V. M. Toxinfecção alimentar por *Salmonella* spp. **Revista Instituto de Ciência e Saúde** 2006; 24(2): 95-101.

CARVALHO, IRINEIDE T. D. **Microbiologia de Alimentos**. Recife: EDUFRPE, 2010.

Disponível em:

<http://200.17.98.44/pronatec/wpcontent/uploads/2013/06/Microbiologia_dos_Alimentos.pdf>. Acesso em: 02 novembro 2016.

CDC, Center for Disease Control and Prevention. ***Salmonella* Annual Report**, 2013.

Publicado em 2/2/2016. Disponível em

<<https://www.cdc.gov/nationalsurveillance/pdfs/salmonella-annual-report-2013-508c.pdf>>.

DUIJKEREN, V.; WANNET, E.; HOUWERS, W. J.; VAN, P. N. Serotype and phage type distribution of *Salmonella* strains isolated from humans, cattle, pigs, and chickens in the Netherlands from 1984 to 2001. **Journal Clinical Microbiology** 2002; 40(11):3980-3985.

FLORES, M. L.; NASCIMENTO, V. P.; KADER, I. I. T. A.; CARDOSO, M.; SANTOS, L. R.; LOPES, R. F. F.; WALD, V. B.; BARBOSA, T. M. C. Análise da Contaminação por *Salmonella* em Ovos do tipo Colonial através da reação em cadeia pela Polimerase. **Ciência Rural**, RS, v. 33, n. 3, p. 553-557, 2003.

FREITAS NETO, O. C.; GALDINO, V. M. C. A.; CAMPELLO, P. L. ; ALMEIDA, A. M.; FERNANDES, S. A. ; BERCHIERI JUNIOR, A. *Salmonella* serovars in laying hen flocks and commercial table eggs from a region of São Paulo state, Brazil. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 16, p. 57-61, 2014.

GAMA, N. M. S. Q. ***Salmonella* spp. em aves de postura comercial**. 2001. 60 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2001.

GANTOIS, I.; DUCATELLE, R.; PASMANS, F.; HAESBROUCK, F.; GAST, R.; HUMPHREY, T. J., ET AL. Mechanisms of egg contamination by *Salmonella* Enteritidis. **FEMS Microbiology**. 2009; 33(4):718- 38.

GAST, R. K. *Salmonella* infections. In: SAIF, Y. M.; FADLY, A. M.; GLISSON, J. R.; MCDUGALD, L. R.; NOLAN, L. K.; SWAYNE, D. E. **Diseases of poultry**. 12. ed. USA: Blackwell Publishing, 2008. p. 619-674.

GAST, R. K.; PORTER JÚNIOR, R. E.; HOLT, P. S. Applying tests specific yolk antibodies to predict contamination by *Salmonella* Enteritidis in eggs from experimentally infected laying hens. **Avian Diseases**, Kennett Square, v. 41, n. 1, p. 195-202, 1997.

GAST R. K.; STONE, H. D.; HOLT, P. S.; BEARD, C. W. Evaluation of the efficacy of an oil-emulsion bacterin for protecting chickens against Salmonella Enteritidis. **Avian Diseases**, Kennett Square, v. 36, n. 4, p. 992-999, 1992.

GAST, R. K.; STONE, H. D.; HOLT, P. S. Evaluation of the efficacy of oil-emulsion bacterins for reducing fecal shedding of Salmonella Enteritidis by laying hens. **Avian Diseases**, Kennett Square, v. 37, n. 4, p. 1085-91, 1993.

GRIMONT, P. A. D.; WEILL, F. X. **Antigenic formulae of the Salmonella Serovars**. 9. ed. Paris: Instituto Pasteur: WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Salmonella, 2007. 166 p.

GUARD-PETTER J. The chicken, the egg and Salmonella enteritidis. **Environ Microbiol.** 2001; 3(7):421-30.

GUIBOURDENCHE, M.; ROGGENTIN, P.; MIKOLEIT, M.; FIELDS P. I.; BOCKEMUHL, J.; GRIMONT, P. A. D.; WEILL, F. X. Supplement 2003-2007 (No. 47) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme. **Research in Microbiology**, Issy les Moulineaux, v. 161, n. 1, p. 26-29, 2010.

HENZLER, D. J.; OPITZ, H. M. The role of mice in the epizootiology of Salmonella Enteritidis infection on chicken layer farms. **Avian Diseases**, Kennett Square, v. 36, n. 3, p. 625-631, 1992.

IBA, A. M.; BERCHIERI, JR, A. Studies on the use of a formic acid-propionic acid mixture (Bio-add™) to control experimental Salmonella infection in broiler chickens. **Avian Pathology**, Huntingdon, v. 24, n. 2, p. 303-311, 1995.

JAY; JAMES, M. **Microbiologia de Alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

KOTTWITZ, L. B. M.; BACK, A.; LEÃO, J. A.; ALCOCER, I.; KARAN, M.; OLIVEIRA, T. C. R. M. Contaminação por *Salmonella* spp. em uma cadeia de produção de ovos de uma integração de postura comercial. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, n. 2, p. 496-498, 2008.

LANGONI, H.; PRADO, R. A. T.; PINTO, J. P. A. N. Isolamento de salmonelas em ovos de galinha oferecidos no comércio de Botucatu - S.P. **Higiene Alimentar**, v. 9, p.45-47,1995.

LEITE, D. D. F. et al. **Qualidade microbiológica de ovos de galinhas caipira comercializados no interior da Paraíba**. Agropecuária Técnica (2016) Volume 37 (1):32-35. Disponível em: <<http://periodicos.ufpb.br/ojs/index.php/at/index>>. Acesso: 5 de dezembro de 2016.

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

MELO, J. M. M. C. et al. Diagnóstico e qualidade microbiológica de ovos caipiras produzidos por agricultores familiares. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 22, n. 1, p. 48-53. 2015.

MIYAMOTO, T.; KITAOKA, D.; WITHANAGE, G. S.; FUKATA, T.; SASAI, K.; BABA, E. Evaluation of the efficacy of Salmonella Enteritidis oil-emulsion bacterin in an intravaginal challenge model in hens. **Avian Diseases**, Kennet Square, v. 43, n. 3, p. 497-505, 1999.

MOTTIN, V. D. et al. **Contaminação por Salmonella em ovos de granja e caipira em um município do interior da Bahia**. C&D-Revista Eletrônica da Fainor, Vitória da Conquista, v.9, n.1, p.150-157, jan./jun. 2016. Disponível em: <<http://srv02.fainor.com.br/revista/index.php/memorias/article/view/440>>. Acesso em: 28 de outubro de 2016.

NAKAMURA, M.; NAGAMINE, N.; TAKASHI, T.; SUZUKI, S.; SATO, S. Evaluation of the efficacy of a bacterin against Salmonella Enteritidis infection and the effect of stress after vaccination. **Avian Diseases**, Kennet Square, v. 38, n.4, p. 717- 724, 1994.

NURMI, E.; RANTALA, M. New aspects of Salmonella infection in broiler production. **Nature**, v. 241, p. 210-211, 1973.

OCHOA, I. M. F.; RODRIGUEZ, A. V. Mecanismos moleculares de patogenicidad de *Salmonella* spp. Review Article [online], v.47, n.1-2, p.25-42, 2005. Disponível em: <http://www.medigraphic.com/pdfs/lamicro/mi-2005/mi05-1_2e.pdf>. Acesso em: 03 de novembro de 2016.

OLIVEIRA, D. D.; SILVA, E. N. Salmonela em ovos comerciais: ocorrência, condições de armazenamento e desinfecção da casca. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, n. 6, p. 655-661, 2000.

OLIVEIRA, A. P. et. al. Salmonella Enterica: genes de virulência e ilhas de patogenicidade. Enciclopédia biosfera, **Centro Científico Conhecer** - Goiânia, v.9, N.16; p.1948, 2013.

PAULA, A. M. R. **Deteção de Salmonella em Alimentos Crus de Origem Animal Empregando os Imunoensaios Rápidos TECRA™ Salmonella VIA, TECRA™ Salmonella UNIQUE e o método convencional de cultura**.2002, 49 f. Dissertação (Mestrado. em Ciências Farmacêuticas) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

SANTOS, L. R.; NASCIMENTO, V. P.; FLORES, M. L. Salmonella enteritidis isoladas de amostras clínicas de humanos e alimentos envolvidos em episódios de toxinfecções alimentares, ocorridas entre 1995 e 1996 no Estado do Rio Grande do Sul. **Higiene Alimentar**. 2002; 16 (102/103): 93-9.

SEDOSKI, H.D.; BEAMER, S.K.; JACZYNSKI, J.; PARTINGTON, S.; MATAK, K.E. Sensory evaluation and quality indicators of nutritionally enhanced egg product with ω -3 rich oils. **Food Science and Technology**, v. 47, n. 2, p. 459-464, 2012.

SHIVAPRASAD, H. L. Fowl typhoid and pullorum disease. **Revue Scientifique et Technique**, Paris, v. 19, n. 2, p. 405-424, 2000.

SILVA, E. N. Medidas gerais de controle de salmonelas em frangos. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2005, Campinas, **Anais...**, Campinas, FACTA, 2005, p. 229-237.

TESSARI, E. N. C.; CARDOSO, A. L. S. P.; KANASHIRO, A. N. I.; STOPPA, G. F. Z.; LUCIANO, R. L.; CASTRO, A. G. M. **Ocorrência de *Salmonella* spp. Em carcaças de frangos industrialmente processadas, procedentes de explorações industriais do Estado de São Paulo, Brasil.** *Ciência Rural*. v.38. n.9. Santa Maria. p.2557 – 2560. 2008.

TIMMS, L. M.; MARSHAL, R. N.; BRESLIN, M. F. Laboratory assessment of protection given by an experimental *Salmonella* Enteritidis PT4 inactivated, adjuvant vaccine. *The Veterinary Record*, London, v. 127, n. 25-26, p. 611-614, 1990.

VAZ, A. B.D.S.; YATSUYAMAGI, S.E.; MIYAGUSKU, L.; BORBA, H.; SOUZA, P.A.D. Avaliação da qualidade microbiológica de ovos proveniente de criação tipo “caipira” e de granja de produção comercial. **Higiene alimentar**, v. 26, n. 212/213, p. 138-142, 2012.

VIEIRA, M. A. **Ilhas de patogenicidade.** *O Mundo da Saúde*, São Paulo, v.33, n.4, p.406-414, 2009.

WOODWARD, M. J.; GETTINGBY, G.; BRESLIN, M. F.; CORKISH, J. D.; HOUGHTON, S. The efficacy of Salenvac, a *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* serotype Enteritidis iron-restricted bacterin vaccine, in laying chickens. **Avian Pathology**, Huntingdon, v. 31, n. 4, p. 383-392, 2002.