

Nota introdutória

Chama-se a atenção para o facto de que, de acordo com a autora, o presente estudo encontra-se desactualizado quer face à nova legislação em vigor, quer ao nível das técnicas de pesquisa bacteriológica, quer ainda face à implementação do Plano de Vigilância e Controlo de Salmonelas em bandos de galinhas poedeiras e de reprodução.

No entanto, tendo em conta que muito embora o trabalho tivesse sido desenvolvido em 2000, continua a ter grande interesse e o tema mantém-se actual, pelo fazemos votos para este estudo seja actualizado em breve.

João Carlos de França Dória

RASTREIO DA INFECÇÃO SALMONÉLICA EM AVES POEDEIRAS E REPRODUTORAS NA ILHA DA MADEIRA



Dr.^a Sílvia Vasconcelos
Médica Veterinária Estagiária da DRP

OUTUBRO 2000

AGRADECIMENTOS

- ✓ Ao Exmo. Sr. Director Regional de Pecuária, Dr. João Carlos Dória, por me ter possibilitado a realização deste estágio.
- ✓ À Dra. Margarida Neves da Costa, Directora do Laboratório Regional de Veterinária, por me ter facultado a possibilidade de efectuar este trabalho.
- ✓ À Dra. Lurdes Clemente, Chefe de Divisão do L.R.V., pela orientação exemplar deste estágio, pela disponibilidade e prestabilidade que a caracterizou, pela transmissão de conhecimentos valiosos para a concretização deste trabalho, e pela amizade que manifestou.
- ✓ À Dra. Rosalina Coelho, Directora de Serviços de Melhoramento Animal, pela sua disponibilidade em facultar-nos prontamente bibliografia que se reverteu de particular importância neste trabalho.
- ✓ Ao Doutor Victor de Almeida, Assessor Principal da D.R.P., pela sua disponibilidade e prontidão em colaborar neste trabalho, no âmbito da estatística.
- ✓ À Dra. Gabriela Pita, Técnica Superiora Principal da D.R.P., pela disponibilidade e importante apoio dado ao longo deste trabalho.
- ✓ Ao Dr. Eduardo Hernandez, Médico Veterinário da Rama Rações, por nos ter facultado informações e bibliografia importantes ao nosso trabalho.
- ✓ Ao Carlos Mané, Técnico Profissional de 1.ª classe do L.R.V., pela partilha da sua vasta experiência profissional e colaboração importante na execução deste trabalho assim como pela amizade demonstrada.
- ✓ Ao Richard Freitas, Técnico Profissional de 1.ª classe do L.R.V., pela pronta e regular colaboração no decurso deste trabalho.
- ✓ À Valéria Gouveia, Assistente Administrativa Especialista da D.R.P., pela sua ajuda valiosa e prontidão na elaboração gráfica deste trabalho.
- ✓ A todos os empresários e técnicos responsáveis pelos aviários, onde efectuámos o nosso trabalho, pela grande disponibilidade demonstrada que nos permitiu a realização do mesmo.
- ✓ Ao Sr. António Nóbrega e ao Sr. Luís Sousa, pela transmissão dos seus conhecimentos no âmbito da história da avicultura da Madeira, e testemunho da experiência que tiveram no ramo.
- ✓ A todos os que de uma forma ou de outra contribuíram para a realização deste trabalho.

ÍNDICE

I.	Introdução -----	5
II.	Resenha histórica sobre a avicultura Industrial na Madeira -----	5
III.	Conceitos gerais -----	7
1.	Enterobacteriaceae -----	7
2.	Salmonella -----	7
2.1.	Características do microrganismo -----	7
2.1.1.	Características morfológicas -----	7
2.1.2.	Características culturais -----	7
2.1.2.1.	Meios líquidos de enriquecimento e selecção -----	8
2.1.2.1.1.	Água peptonada tamponada -----	8
2.1.2.1.2.	Caldo selenito -----	8
2.1.2.1.3.	Caldo tetrionato -----	8
2.1.2.1.4.	Caldo Rappaport Vassiliadis -----	8
2.1.2.2.	Meios sólidos selectivos e de isolamento -----	9
2.1.2.2.1.	MacConkey Agar Nº 3 -----	9
2.1.2.2.2.	Agar Verde Brilhante -----	10
2.1.2.2.3.	Salmonella Shigella Agar -----	10
2.1.2.2.4.	SMID -----	11
2.1.2.2.5.	Mueller Hinton Agar -----	11
2.1.3.	Características bioquímicas -----	11
2.1.3.1.	Testes de fermentação -----	11
2.1.3.2.	Testes de descarboxilação dos aminoácidos -----	12
2.1.3.3.	Outras reacções bioquímicas -----	12
2.1.3.4.	TSI (triple sugar iron) -----	12
2.1.3.5.	Caldo Ureia -----	13
2.1.4.	Características serológicas -----	14
3.	Patogenicidade do microorganismo -----	15
3.1.	Nos humanos -----	15
3.2.	Nos animais -----	18
3.2.1.	Prevalência da Infecção Salmonélica em Aves do Género Gallus na Ilha da Madeira -----	19
IV – Material (amostras) -----		23
1.	Locais de recolha das amostras -----	23
2.	Técnica de colheita das amostras e material utilizado na sua recolha -----	30
	Amostras de superfície (jaulas e tapetes de recolha de ovos) -----	30
	Amostras de fezes, camas, poeira e ninhos -----	30
	Amostras de penugem -----	30
	Amostras de embriões mortos dentro da casca -----	31
	Amostras de ovos de mesa e incubáveis -----	31
	Amostras de sangues -----	31
3.	Amostras recolhidas nos diferentes sectores de produção -----	31

V – Métodos Bacteriológicos para pesquisa e identificação de Salmonella nos diferentes tipos de amostras	33
1. Aves do dia.....	33
2. Aves de outras idades.....	33
3. Ovos de mesa e incubáveis	33
4. Embriões mortos dentro da casca.....	33
5. Penugem e detritos de eclosão	33
6. Amostras de fezes	34
VI – Prova de Aglutinação Rápida	39
VII – Resultados	40
1. Amostras para exame serológico	40
Poedeiras	40
Reprodutoras.....	40
Pintos do dia (Centro de incubação)	41
2. Outras Amostras.....	41
Poedeiras	41
Reprodutoras e Centro de Incubação.....	43
3. Testes de sensibilidade aos Antibióticos e Quimioterápicos.....	44
VIII – Interpretação dos Resultados	46
IX – Conclusão	49
X – Referências Bibliográficas	50
XI – Anexos	52

I. Introdução

Pretendemos, com este trabalho, fazer um rastreio da infecção salmonélica em aves poedeiras e reprodutoras em alguns aviários da Região. Para tal, escolhemos três aviários de poedeiras licenciados e o único aviário de reprodução existente na Região, ao qual está agregado um Centro de Incubação.

Em cada pavilhão de produção foram efectuadas duas visitas com intervalos variáveis e nas quais foram recolhidas amostras de acordo com o descrito no capítulo IV.

No laboratório, as amostras foram processadas de acordo com as técnicas descritas no capítulo V e os respectivos resultados são apresentados.

Em cada visita efectuada foi preenchido um formulário (anexos I, II e III), de acordo com o tipo de produção, onde foram tidos em consideração alguns aspectos importantes, tais como os ligados à produção, medidas profiláticas instituídas, estado higio-sanitário do bando e respectivas instalações.

II. Resenha histórica sobre a avicultura industrial na madeira

Pretendendo ter uma ideia de como nasceu a avicultura na Ilha da Madeira e qual a sua evolução nos últimos trinta anos, tendo em conta o facto da informação oficial ser praticamente inexistente, recorreremos ao Sr. António Nunes Nóbrega e ao Sr. Luís de Sousa, duas pessoas que desde o início estiveram ligadas a este sector e que muito amavelmente cederam os elementos que pretendíamos, numa breve entrevista que passamos a resumir:

- Até ao final da década de 50 a avicultura regional era baseada na criação de galinhas em regime caseiro/familiar para auto-consumo.
- Por volta de 1958/1960 o Dr. Sérgio Pessoa, autor do livro “Avicultura Madeirense”, veio à Região dar um curso de avicultura, o qual teve como principal consequência o espoletar deste sector agrário e a criação da primeira empresa avícola.
- Os primeiros passos da avicultura organizada iniciaram-se então com alguns interessados que adquiriram incubadoras (“chocadeiras”), inicialmente com a capacidade de 1000 ovos, surgindo pouco tempo depois outros empresários que também adquiriram incubadoras, mas já com a capacidade de 1500 ovos.

- Nessa altura, os pintainhos eram vendidos por toda a ilha, a partir dos 15 dias de idade, em caixas aquecidas por lâmpadas de infravermelhos, estando essa comercialização a cargo dos próprios avicultores.
- Inicialmente os ovos destinados à incubação eram importados, mas logo depois surgiram avicultores que se dedicaram à criação de aves de reprodução, tendo as primeiras sido importadas da Dinamarca. Os ovos obtidos dessas galinhas eram, então, vendidos a outros avicultores que possuíam incubadoras (“chocadeiras”).
- Uns anos mais tarde surgiu em Câmara de Lobos uma empresa avícola, com dois sócios, já com características industriais. A capacidade das suas incubadoras foi inicialmente de 1 500 ovos e posteriormente de 7 000 e 20 000 ovos, que funcionavam na garagem da própria casa de um deles. Num local próximo situava-se um armazém onde os pintos eram criados, em baterias verticais e aquecidos com lâmpadas de infravermelhos, pois só mais tarde apareceram os primeiros aquecedores a gás.
- Com o decorrer dos anos e a melhoria do nível de vida e desenvolvimento da população, a produção das denominadas “galinhas de campo” começou a decair, dando-se início à criação intensiva das primeiras galinhas poedeiras, da raça “White Leghorn”, entre 1965-1970.
- Como os ovos brancos tinham pouca aceitação pelos consumidores, esta raça foi substituída por poedeiras de estirpes castanhas, que produzem ovos castanhos, nascendo então a primeira grande empresa avícola industrial regional, denominada “Granja Avícola da Madeira”, constituída por três sócios que iniciou a sua actividade com cerca de 50 000 galinhas, criadas no solo.
- Posteriormente, o sector foi-se desenvolvendo e foram aparecendo outros avicultores, com galinhas criadas em baterias. A par deste desenvolvimento, surgiu a criação de frangos de carne “broilers”. Neste sector o maior problema era o abate, pois em toda a Ilha não havia um Centro de Abate licenciado e com inspecção veterinária. As aves eram abatidas num anexo às fábricas de alimentos compostos (“rações”) “Companhia Insular de Moinhos” e “Provimi”, bem como no Mercado Municipal, onde num fim-de-semana chegava a vender-se 5 000 frangos vivos, os quais eram aí abatidos no momento da venda.
- Por volta de 1980, eclodiu uma crise no sector, que se traduziu por uma grande baixa na produção regional. Surgiu então uma associação de cinco avicultores, denominada “Avimadeira”, a qual importou da Holanda, através de voos “charter” especializados, cerca de 200 000 pintos e ovos de incubação, os quais foram distribuídos pelos vários avicultores da Região, tendo a crise sido superada.

- Nos finais da década de 1980 formou-se uma outra associação, de três avicultores, denominada “Sodiprave”, a qual já dispunha de um centro de abate de aves próprio, em conformidade com a legislação então vigente, e com inspeção sanitária veterinária.
- Paralelamente, foi criado o primeiro centro de classificação de ovos.
- Também nos finais dos anos 80, nasceu uma associação de dezoito avicultores com as duas fábricas de ração existentes, denominada “Avipérola” e que após adquirir as primeiras incubadoras (“chocadeiras”) à empresa “Avimadeira”, importou aves reprodutoras e é hoje o único aviário de multiplicação existente na Região.

III. Conceitos Gerais

1. Enterobacteriaceae

As enterobacteriaceae ou bactérias entéricas, tal como o seu nome indica, residem no tracto intestinal do homem e animais, tal como na natureza.

São bacilos não esporulados, Gram negativos, aeróbios e facultativamente anaeróbios. São todas fermentativas, oxidase negativa, catalase positiva e reduzem os nitratos a nitritos.

2. Salmonella

Alguns membros das Enterobacteriaceae, como é o caso da *Salmonella spp.*, são primariamente patogénicas para o homem, sendo a sua identificação muito importante, tanto sob o ponto de vista clínico como epidemiológico (2, 3, 4 e 9). A serotipia e a fagotipificação dos agentes isolados, permite a identificação dos aproximadamente 1 600 serótipos conhecidos (4), a qual é feita em laboratórios de referência nacionais, que no nosso caso é o Laboratório Nacional de Investigação Veterinária (LNIV), em Lisboa.

Este microrganismo está amplamente distribuído em mamíferos e aves, traduzindo-se em graves perdas económicas nas espécies pecuárias e num potencial risco de infecção humana, através da cadeia alimentar (4).

2.1. Características do microrganismo

2.1.1. Características morfológicas

Como já foi referido, são bacilos Gram negativos, com 2-4 µm, não capsulados e não esporulados. A maioria dos serótipos é móvel devido à presença de flagelo, com excepção da

Salmonella pullorum e *Salmonella gallinarum*. Algumas estirpes possuem fímbrias tipo 1 hemaglutinantes, enquanto outras possuem tipo 2 não hemaglutinantes ou não possuem fímbrias (2).

2.1.2. Características culturais

São aeróbios e anaeróbios facultativos. Crescem em meios laboratoriais simples entre 15° C a 42° C, sendo no entanto 37° C a temperatura óptima de crescimento.

2.1.2.1. Meios líquidos de enriquecimento e selecção

Utilizam-se meios de cultura líquidos, próprios para enriquecimento, e para favorecer o isolamento de *Salmonella*, a partir de fezes, esgotos, matérias-primas e outras amostras que contenham uma flora bacteriana mista, designadamente a água peptonada tamponada, o caldo selenito, o caldo tetrionato e o caldo Rappaport Vassiliadis.

O material a analisar é então inoculado nestes meios e, durante a incubação a 37° C, a *Salmonella* cresce rapidamente, enquanto a *E. coli* e a maioria das outras bactérias é inibida.

Após 24 horas de incubação, as colónias bacterianas enriquecidas são semeadas em meios mais selectivos.

2.1.2.1.1. Água peptonada tamponada

O crescimento neste meio é abundante, com turvação uniforme, formando-se uma película à superfície, quando a incubação é prolongada. Os microrganismos do género *Salmonella* são sensíveis a um pH baixo, mas este meio, devido à presença de substâncias tampão, mantém o pH favorável (12).

2.1.2.1.2. Caldo selenito

O caldo selenito (ex. Oxoid R 39) é um meio de cultura bastante selectivo mas mais raramente utilizado devido ao efeito cancerígeno do biselenito de sódio. Este meio não é muito satisfatório para o isolamento de *Salmonella abortus ovis* e de *Salmonella cholerae suis* (4), mas é particularmente recomendado para ovos e produtos derivados do ovo.

2.1.2.1.3. Caldo tetrionato

O caldo tetrionato (Oxoid CM 671) foi muito utilizado, mas não é recomendável para o isolamento de *S. abortus ovis*, *S. cholerae suis* e *S. paratyphi*.

2.1.2.1.4. Caldo Rappaport Vassiliadis (R.V)

A fórmula deste meio (Oxoid CM 669) é adequada a aproveitar as quatro características da *Salmonella* e compará-las com outras enterobactérias, ou seja:

- capacidade de sobreviver a pressões osmóticas elevadas.
- capacidade de multiplicação a valores de pH relativamente baixos.
- capacidade de resistência ao verde malaquite.
- são menos exigentes no que diz respeito a requerimentos nutritivos.

A quantidade de inóculo a dispensar no meio deve ser suficientemente pequena para não interferir com a sua selectividade. Não deve ser utilizado quando se suspeita de *S.typhi* (2,3,9).

No decurso do nosso trabalho utilizámos o caldo R.V. após um pré-enriquecimento da amostra em água peptonada tamponada.

2.1.2.2. Meios sólidos selectivos e de isolamento

São utilizados após uma fase prévia de enriquecimento e selecção, permitindo a observação de colónias características, depois de um período de incubação de 18 a 24 horas a 42° C em caldo R.V. Existem vários meios sólidos apropriados à cultura de *Salmonella*, dos quais podemos destacar:

2.1.2.2.1. MacConkey Agar N° 3

Este meio (Oxoid CM 115) para além de, na sua composição, incorporar componentes (sais biliares e cristal violeta) que inibem o crescimento dos Gram positivos, também possui lactose, a qual consoante o tipo de enterobactéria é ou não fermentada. Os microrganismos do género *Salmonella* não são fermentadores da lactose, tendo as colónias uma tonalidade pálida (foto 1), ao contrário de *E.coli* e *Klebsiella*, cujas colónias têm uma tonalidade rosa devido à fermentação da lactose, após incubação a 37° C durante 18 a 24 horas.

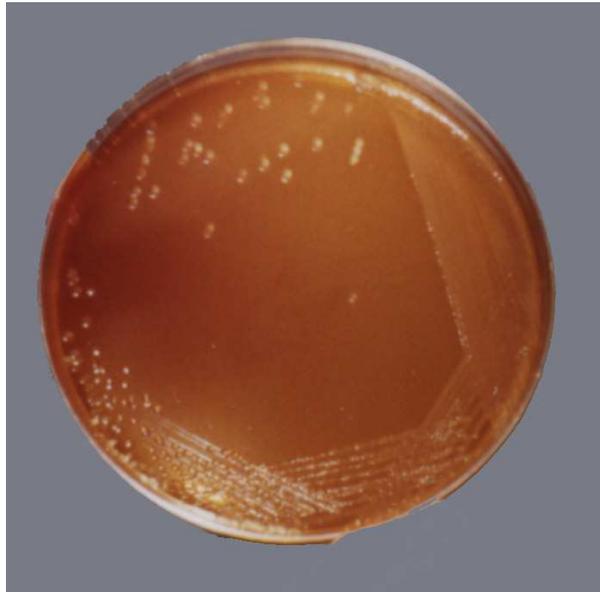


Foto 1 – Colónias de *Salmonella spp.* em meio Agar MacConkey

2.1.2.2.2. Agar Verde Brillante

Este meio (Oxoid CM 263) possui na sua composição verde brilhante na proporção de 0.0125 g/litro, o qual inibe o crescimento de *E.coli* e outras enterobactérias, promovendo o crescimento de *Salmonella*. As colónias aparecem com uma tonalidade rosa devido à ausência de fermentação de lactose e sacarose por parte deste microrganismo (foto 2).



Foto 2 – Colónias de *Salmonella spp.* em meio Agar Verde brilhante

2.1.2.2.3. Salmonella Shigella Agar (Oxoid CM 99)

Para além de alguns componentes que inibem o crescimento de Gram +, o SSA (Oxoid CM 99) possui tiosulfato de sódio que em combinação com os sais de ferro actua como indicador de produção de sulfureto de hidrogénio (SH₂) e que se traduz por um enegrecimento do meio. As colónias características de *Salmonella* aparecem com um halo claro e o centro negro (foto 3).

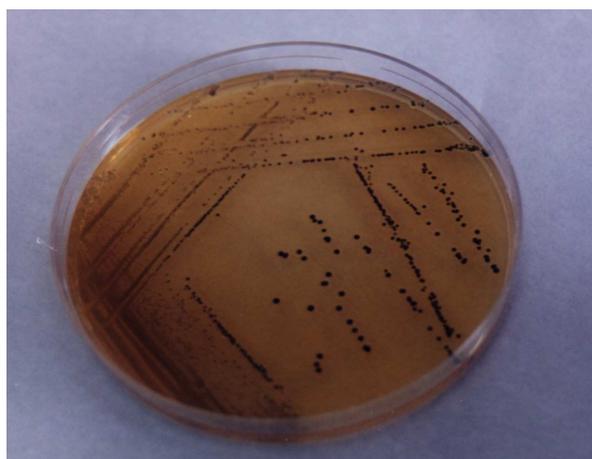


Foto 3 - Colónias de *Salmonella spp.* em meio Salmonella Shigella Agar

2.1.2.2.4. SMID

É um meio de cultura relativamente recente (Biomérieux ref. 43291) e que é comercializado já preparado em placas, tornando-se assim bastante dispendioso o seu uso como meio de isolamento em procedimentos de rotina laboratorial. As colónias de *Salmonella* aparecem com uma tonalidade rosa, devido à metabolização do glucoronato, ao contrário de outros microrganismos que produzindo B galactosidase dão colónias azuladas. Em algumas circunstâncias utilizámos este meio nos respectivos procedimentos laboratoriais de isolamento.

2.1.2.2.5. Mueller Hinton Agar

Este meio (Oxoid CM 337) foi utilizado para a prova de sensibilidade aos antibióticos.

2.1.3. Características Bioquímicas

2.1.3.1. Testes de fermentação

A *Salmonella* geralmente fermenta os hidratos de carbono com produção de ácido e gás, havendo, no entanto algumas exceções entre as quais destacamos: *S.typhi*, *S.pullorum/gallinarum*, e *S.newport*, as quais só produzem ácido. Os hidratos de carbono usualmente fermentados pela *Salmonella* são: a glucose, o manitol, a arabinose, a maltose, o dulcitol e o sorbitol. Geralmente não são fermentados: a lactose, a sacarose, a salicina e o adonitol (2, 9).

2.1.3.2. Testes de descarboxilação dos aminoácidos

Os organismos do género *Salmonella* descarboxilam os aminoácidos lisina, ornitina e arginina (2,9).

2.1.3.3. Outras reacções bioquímicas

- Não produz Indol.
- Vermelho de metilo positivo e Voges Proskauer negativo.
- Citrato positivo, com excepção de algumas estirpes, tais como: *S.typhi* e *S.paratyphi A*
- Malonato negativo.
- Urease negativa.
- Desaminase da fenilalanina negativa.
- Liquefacção da gelatina negativa.
- Produção de SH₂.

Durante o nosso trabalho e na avaliação das características bioquímicas, utilizámos as galerias “API - Enteric Identification System” da “bioMerieux”, nomeadamente as “20E” e “Rapid 20E”, as quais permitem a identificação das colónias suspeitas mediante 20 testes bioquímicos estandardizados (2, 9) (foto 4).



Foto 4 – Reacções bioquímicas de *Salmonella spp.* em galeria API-20E

2.1.3.4. TSI (Triple Sugar Iron)

Este meio na sua composição para além dos três açúcares glicose, lactose e sacarose, possui citrato de ferro e tiosulfato de sódio, os quais permitem observar a formação de SH_2 , por determinado tipo de microrganismos nomeadamente a *Salmonella*. Esta reacção traduz-se por um enegrecimento do meio.

A formação de gás, bem como a fermentação, ou a sua ausência, observam-se através da formação de bolhas de gás e alteração da cor do meio, respectivamente.

A maioria dos microrganismos do género *Salmonella* fermenta a glicose com produção de gás o que se detecta pela viragem da cor do meio para amarelo (fundo). No que diz respeito à lactose e sacarose, como não existe fermentação por parte do microrganismo, a reacção é alcalina (plano inclinado vermelho/rosado) (foto 5).

2.1.3.5. Caldo ureia

Este meio permite a diferenciação dos microrganismos produtores (ex. *Proteus spp.*) dos não produtores de urease, com por exemplo a *Salmonella* (foto 5).

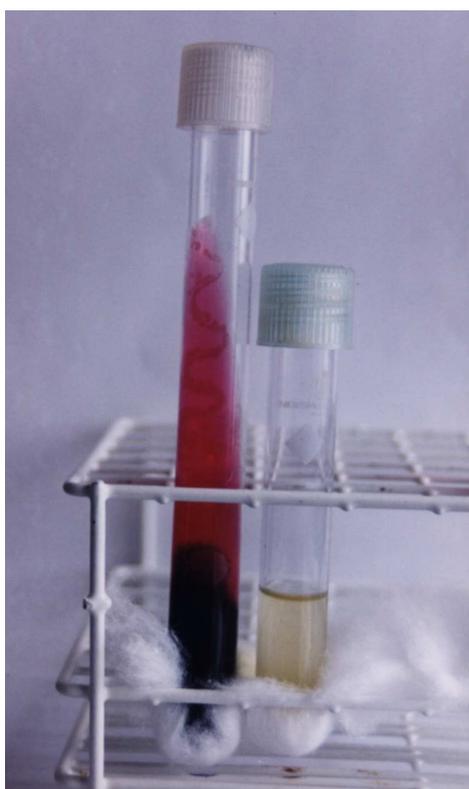


Foto 5 – Reacção de *Salmonella spp.* em meio de TSI e em caldo ureia

2.1.4. Características serológicas

Após a caracterização bioquímica, deverá ser feita a sua classificação com base na estrutura antigénica, a qual foi originalmente estudada por Kauffmann e White.

São já conhecidos cerca de 1 600 serótipos, utilizando os seguintes grupos antigénicos:

- Antigénios somáticos ou O – são os mais importantes, ocorrem praticamente em todas as *Salmonella spp* na fase lisa, são termo-estáveis e designam-se por números que vão de 1 a 61.

- Antigénios flagelares – são termo-lábeis e dividem-se em:

- Antigénios fase 1 - designados por letras minúsculas e são mais ou menos específicos para o género *Salmonella spp*;
- Antigénios fase 2 - designados por algarismos e são menos específicos.

- Antigénio K ou capsular.

- Antigénio Vi – é um antigénio de superfície e apenas existe na *S.typhi* e *S.paratyphi* (7).

Conforme referenciámos anteriormente, a identificação serológica de *Salmonella* exige um estudo detalhado da estrutura antigénica através de soros específicos e que é feito em laboratórios

de referência nacionais que, para as espécies pecuárias em Portugal, é o LNIV (Laboratório Nacional de Investigação Veterinária) – Lisboa.

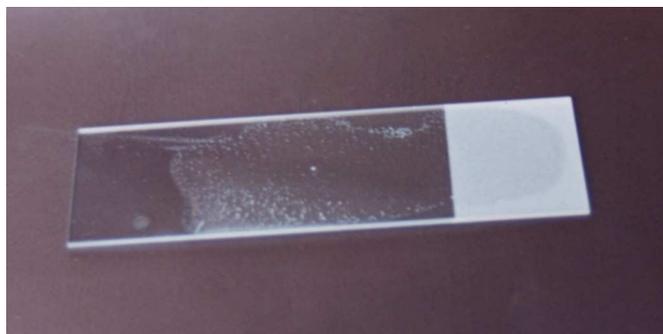


Foto 6 -Reacção de aglutinação de *Salmonella spp.* com anti-soro polivalente AI-Vi (Quilaban)

3 – Patogenicidade do microrganismo:

3.1 – Nos Humanos

Os microrganismos do gén. *Salmonella*, tal como foi dito anteriormente, podem infectar o homem e os animais, traduzindo-se pelo aparecimento de gastroenterites, diarreia e desidratação, podendo em casos mais graves originar septicemia e morte (18).

Alguns serótipos são estritamente adaptados a certos hospedeiros, como por exemplo o caso de *S.typhi* e *S.paratyphi A*, estritamente adaptados ao homem, sendo os agentes das febres tifóide e paratifóide, respectivamente. Outros são ubíquos e estão adaptados a um largo número de espécies animais, como por exemplo a *S. typhimurium* e a *S. enteritidis* entre outras.

Estas duas estirpes são a principal causa de toxinfecção alimentar humana, através da ingestão de alimentos contaminados, principalmente carne de aves e ovos. Para além da via de contaminação oral através da ingestão de diversos tipos de alimentos contaminados (alimentos mal cozinhados, especialmente derivados de aves, leite cru, etc.), temos a considerar o contacto e a inalação (ex. poeiras contaminadas com fezes de animais) (18). Os principais grupos de risco são as crianças, idosos e gestantes.

Após recuperação da doença, alguns pacientes, embora assintomáticos, tornam-se portadores de *Salmonella* por tempo indeterminado, contribuindo para a disseminação da doença. Por isso, é importante o diagnóstico da situação de “portador”, através de culturas e isolamentos periódicos do agente (9, 10).

Como acção benéfica e de acordo com estudos recentes, crê-se que a *Salmonella* possa interferir no processo de crescimento do cancro, ao multiplicar-se nele e abrandando assim o seu crescimento (19), o que constitui uma linha de investigação bastante interessante.

Para uma melhor noção da incidência das diversas infecções salmonélicas em humanos nos anos de 1995 a 1999 em Portugal, apresentamos as tabelas seguintes.

Tabela 1: Incidência da infecção salmonélica humana em Portugal continental *

Ano	Nº de casos de febre tifóide e paratifóide	Nº de casos de outras infecções salmonélicas	N.º de casos de outras infecções salmonélicas		
			<i>S.enteritidis</i>	<i>S.typhimurium</i>	Outros serótipos
1995	424	257	187	40	30
1996	335	263	136	57	70
1997	277	264	187	37	40
1998	302	186	124	44	18

*Dados recolhidos (7, 11)

Podemos observar que o número de casos de febre tifóide e paratifóide é superior ao número de casos de infecções causadas por outros serótipos, destacando-se dentro deste grupo a predominância de *Salmonella enteritidis*.

Tabela 2: Incidência da infecção salmonélica humana na R.A.M.*

Ano	Nº de casos de febre tifóide e paratifóide	Nº de casos onde a serotipia não foi efectuada ou não é mencionada	Nº de casos de infecção salmonélica por <i>S. enteritidis</i>	Total
1995	1	-	-	1
1996	2	3	-	5
1997	3	5	-	8
1998	1	7	10	18
1999	**	18	5	23

* Dados recolhidos de (7, 15)

** Não dispomos de informação

No que diz respeito à R.A.M. a informação disponível não é muito esclarecedora, pois na maioria dos casos a serotipia das estirpes isoladas não foi efectuada ou não é mencionada.

Presume-se que a incidência da infecção salmonélica humana em todo o território português seja mais elevada do que a mencionada nas respectivas tabelas, pois temos conhecimento que muitos dos casos não são reportados às autoridades sanitárias (ex. Direcção-Geral de Saúde; Direcção Regional de Saúde Pública). Por outro lado, em alguns laboratórios privados e estatais onde o diagnóstico bacteriológico da *Salmonella* é efectuado, não se procede à serotipia das estirpes isoladas ou esta é incompleta, para além de também não participarem às autoridades sanitárias.

Como já foi referenciado anteriormente, a infecção salmonélica surge no Homem após ingestão de produtos contaminados, sendo a maioria de origem animal. Na tabela (3) são apresentados os casos de isolamento de *Salmonella* em produtos alimentares, em Portugal, em igual período.

Tabela 3: Estirpes de *Salmonella* isoladas em produtos alimentares de origem avícola em Portugal Continental no período decorrido de 1995/98 *

N.º total de estirpes de origem alimentar	N.º total de estirpes com origem avícola	N.º total de estirpes com origem avícola			<i>Salmonella enteritidis</i>			<i>Salmonella typhimurium</i>		
		Frango	Ovos	Perú	Frango	Ovos	Perú	Frango	Ovos	Perú
404	166	80	71	15	52	70	3	0	0	2

*Dados obtidos de (11)

Como pudemos observar, 41% das estirpes isoladas tiveram origem avícola, sendo a carne de frango e ovos os produtos em que houve uma maior incidência de isolamento de *Salmonella* designadamente *S. enteritidis* (73%).

Em relação ao ano de 1999 e segundo informação do departamento de Bacteriologia do LNIV (Laboratório Nacional de Investigação Veterinária) (11), houve um total de 32 amostras confirmadas como sendo produtos de origem avícola contaminados com microrganismos do género *Salmonella*, sendo 43.7% das amostras infectadas com *Salmonella enteritidis* e 12.6% com *Salmonella typhimurium*.

Em relação à R.A.M. e no que diz respeito a análises efectuadas em produtos alimentares (matéria-prima ou pratos cozinhados), apenas dispomos de informação do departamento de Bromatologia do LRV (Laboratório Regional de Veterinária), tabela (4), dado ser a única entidade laboratorial existente nesta Região a efectuar tais análises.

Tabela 4: Pesquisa de *Salmonella* efectuada em produtos alimentares de origem avícola na R.A.M. no período decorrido de 1995/1999 *

Ano	Produtos avícolas			Amostras positivas à pesquisa de <i>Salmonella</i>	<i>S.enteritidis</i>	<i>S.typhimurium</i>	Outros serótipos
	Frango	Peru	Ovos				
1995	0	1	34	0	0	0	0
1996	0	2	3	0	0	0	0
1997	16	2	6	0	0	0	0
1998	17	0	4	+ (1 amostra de frango marinado)	0	0	+ <i>S. hadar/S. istambul</i>
1999	2	0	6	0	0	0	0
Total	35	5	53	1	0	0	0

*Dados recolhidos de (14)

Como podemos observar, houve apenas um caso de isolamento de *Salmonella* num total de 93 amostras analisadas.

3.2. Nos animais

A infecção natural nos animais ocorre por via oral, podendo também considerar-se a via aerógena (inalação de poeira contaminada com fezes de animais doentes) e a via transovárica nas estirpes de transmissão vertical, tais como *S. pullorum/gallinarum* e *S. enteritidis* (6).

Em geral nos mamíferos, a Salmonelose traduz-se por uma infecção latente e inaparente nos animais adultos e nas fêmeas em esterilidade, aborto ou nascimento de animais diminuídos, que poderão vir a padecer de gastroenterite, poliartrite e septicemia (6).

No que diz respeito às aves, temos a considerar a pulorose e outras infecções salmonélicas.

Hoje em dia, a primeira é considerada quase erradicada, devido a uma selecção constante dos reprodutores evitando assim a transmissão vertical da doença.

As infecções causadas por outros serótipos são as mais frequentes, principalmente por *S. enteritidis* e *S. typhimurium*. Conforme foi referenciado anteriormente, estes microrganismos habitam o intestino, podendo ocasionalmente infectar o ovário.

Nas aves adultas, a infecção é geralmente inaparente e a eliminação de *Salmonella* faz-se através das fezes, contaminando os ovos através da casca à passagem na cloaca. No caso de haver ovarite, o ovo é já infectado nos folículos ováricos (transmissão transovárica).

Em ambas as situações, o resultado final é a morte embrionária, infecção do pinto ou do ovo que se destina ao consumo humano.

Nas aves jovens a infecção surge a partir do 2.º - 3.º dias de contaminação, com mortalidade elevada, diarreia branca, abatimento e morte. A partir do 8.º dia, a mortalidade diminui passando a infecção ao estado crónico (6).

4.1. Prevalência da infecção salmonélica em aves do género *Gallus gallus* na Madeira

Para uma melhor compreensão da importância da referida patologia a nível dos galináceos, achámos importante apresentar os resultados laboratoriais referentes a análises microbiológicas (14) efectuadas no período decorrido entre 1995 /1999 nos territórios Continental e da Ilha da Madeira (tabelas 5,6 e 7).

Apesar do nosso estudo incidir apenas em aves poedeiras e reprodutoras, considerámos também a apresentação dos dados referentes aos frangos de carne (“broilers”), pois não só representam o maior volume de análises, como também sob o ponto de vista de saúde pública será talvez a maior fonte de infecção salmonélica humana.

Para uma melhor interpretação dos valores apresentados nas tabelas, achámos importante definir alguns conceitos:

- **Broilers:** Aves produtoras de carne, desde 1 dia de existência até à idade do abate (\pm 4-5 semanas). Também incluímos neste grupo as aves que geneticamente são de aptidão carne, mas são criadas em “regime caseiro/familiar” por tempo indeterminado com vista ao abastecimento familiar. Relativamente aos pintos do dia (aves com 1 dia de existência), algumas amostras referem-se a bandos provenientes do mesmo lote de reprodutoras, como medida de rastreio e controlo da doença.
- **Reprodutoras (carne):** Aves desde 1 dia de idade até ao abate e que se destinam à postura de ovos incubáveis. A maioria das amostras diz respeito a colheitas periódicas efectuadas nos pavilhões de reprodução podendo o mesmo bando ser rastreado

num ano mais de uma vez como medida de despiste e controlo da infecção. Também foram efectuadas algumas recolhas no Centro de Incubação.

- **Poedeiras:** Aves desde 1 dia até ao abate e que se destinam à postura de ovos de mesa. As amostras provenientes deste tipo de aves constaram essencialmente de ovos e cadáveres em diferentes fases da sua vida produtiva. No período referido, nunca foi efectuada uma colheita exaustiva e periódica nos diferentes bandos em produção, com vista a um rastreio da doença.

- **Casos positivos:** Quando se tratam de análises efectuadas em cadáveres, referimo-nos à totalidade dos indivíduos da amostra para a qual a pesquisa de *Salmonella* foi positiva. Quando se trata de outro tipo de amostras, nomeadamente as provenientes do meio ambiente dos pavilhões ou dos ovos, o número de casos positivos refere-se à totalidade das amostras recolhidas provenientes de um determinado bando, na qual a pesquisa de *Salmonella* resultou positiva.

- ***Salmonella spp.*:** estirpes isoladas e não enviadas para serotipia.

Tabela 5: Prevalência da infecção salmonélica em broilers na ilha da Madeira no período decorrido de 1995/1999 *

Ano	N.º total de amostra	Casos positivos		<i>S.enteritidis</i>		<i>S.typhimurium</i>		<i>Salmonella spp.</i>		Outros serótipos	
		N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%
1995	229	20	8.73	20	100	0	0	0	0	0	0
1996	539	170	31.54	150	88.24	0	0	20	11.76	0	0
1997	484	124	25.62	121	97.58	0	0	3	2.41	0	0
1998	259	32	12.35	10	31.25	0	0	0	0	22*	68.75
1999*	235	68	28.93	68	100	0	0	0	0	0	0
Total	1746	414	23.71	369	89.13	0	0	23	5.55	22	5.31

**Salmonella havana*

Tabela 6 – Prevalência da infecção salmonélica em reprodutoras (de “broilers”) na Ilha da Madeira no período decorrido de 1995/1999

Ano	N.º total de amostra	Casos positivos		<i>S. enteritidis</i>		<i>S. typhimurium</i>		<i>Salmonella spp.</i>		Outros serótipos	
		N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%
1995	73 a)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1996	170 b)	64	37.65	32	50	0	0	16	25	16**	25
1997	189	58	30.68	58	100	0	0	0	0	0	0
1998	91	16	17.58	16	100	0	0	0	0	0	0
1999*	33 c)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	556	138	24.82	106	76.81	0	0	16	11.6	16	11.6

***Salmonella havana e S. madelia*

a) Inclui 2 amostras de penugem.

b) Inclui 2 amostras de penugem de ecloras e 30 zaragatoas do centro de incubação.

c) Inclui 1 amostra de penugem.

Tabela 7 – Prevalência da infecção salmonélica em poedeiras na Ilha da Madeira no período decorrido de 1995/1999

Ano	N.º total de amostras	Casos positivos		<i>S. enteritidis</i>		<i>S. typhimurium</i>		<i>Salmonella spp.</i>		Outros serótipos	
		N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%
1995	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1996	30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1997	27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1998	240 a)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1999	120 a)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	422	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

a) Ovos de mesa

Observando as tabelas 5, 6 e 7, constatamos que nos galináceos, os “broilers” representam o maior volume de amostras recebidas. No entanto, a incidência de casos positivos nos reprodutores (24,82%) é ligeiramente superior à dos “broilers” (23,71%).

No que diz respeito às poedeiras, o total de amostras analisadas (422) é constituído na sua quase totalidade por ovos de mesa (85,3%), enviados ao laboratório por um dos centros de classificação de ovos. Mais referimos, que durante o período citado, nunca foram efectuadas colheitas exaustivas e periódicas nos diferentes bandos em produção com vista a um rastreio da doença.

No que diz respeito aos serótipos isolados em “broilers” e reprodutores é a *S. enteritidis* que prevalece, com excepção do ano de 1998 que, nos “broilers”, foi *S. havana*.

IV - Material (amostras)

1. Locais de recolha das amostras

Para a realização do nosso trabalho, seleccionámos 3 aviários licenciados e destinados à produção de ovos de mesa, os quais designámos por A, B, e C e o único aviário de reprodução da região, designado por D, o qual possui também um centro de incubação.

Não dispomos de informação sobre a sua localização no que diz respeito às respectivas coordenadas geográficas.

AVIÁRIO A

Situa-se no concelho de Câmara de Lobos e está implantado a uma altitude aproximada de 500 a 600 metros acima do nível do mar. Possui 3 pavilhões destinados à produção e um centro de classificação de ovos. A estirpe de galinhas explorada é a *Isabrown*, sendo as fases cria /recria feitas nas instalações de outro avicultor.



Foto 7 – Recolha automática de ovos para classificação

Pavilhão1

4 Filas de baterias verticais com 4 andares e alojando em média 6 aves/jaula

Tapete com secagem automática de fezes.

Recolha automática de ovos.

Sistema de ventilação natural.



Foto 8 – Pavilhão 1

Pavilhão2

4 Filas de baterias verticais com 3 andares e alojando entre 3 a 6 aves/jaula

Tapete com secagem automática de fezes.

Recolha automática de ovos.

Tecto com isolamento e sistema de ventilação natural.



Foto 9 – Pavilhão 2

Pavilhão 3

Pavilhão moderno de ambiente controlado com:

4 Filas de baterias verticais com 4 andares e alojando até 6 animais/jaula

Tapete com secagem automática de ovos

Recolha automática de ovos.

AVIÁRIO B

Situa-se no concelho de Santa Cruz e está implantado a uma altitude de 600 a 700 metros acima do nível do mar. Possui 2 pavilhões destinados à produção, 1 pavilhão de cria/recria e um Centro de Classificação de Ovos. A estirpe de galinhas explorada é a *Dekaub*, sendo as fases de cria/recria normalmente efectuadas nas próprias instalações.

Pavilhão1

5 Filas de baterias californianas de 4 andares e alojando entre 3 a 4 aves/jaula.

Recolha automática de ovos.

Sistema de ventilação natural e sem isolamento no tecto.



Foto 10 – Pavilhão 1

Pavilhão 2



De características idênticas às descritas para o pavilhão 1.

Foto 11 – Pavilhão 2

AVIÁRIO C

Situa-se no concelho de Santa Cruz, a uma altitude de 600 a 700 metros acima do nível do mar. Possui 2 pavilhões destinados à produção e um pavilhão adaptado a recria. A classificação dos ovos é feita num centro de classificação colectivo. A estirpe de galinhas explorada é a *Isabrown*, tendo as aves sido recriadas fora da exploração, com excepção do bando mais velho, o qual 50% do seu efectivo foi recriado dentro das instalações da exploração.

- Características dos pavilhões:

Pavilhão 2

3 Filas de baterias californianas com 4 andares, as quais alojavam entre 5 a 6 aves/jaula.

Recolha automática de ovos.

Sistema de ventilação natural com tecto sem isolamento.



Foto 12 – Pavilhão 2

Pavilhão 3

5 Filas de baterias verticais com 3 andares alojando cerca de 4 aves/jaula.

Sem recolha automática de ovos.

Sistema de ventilação natural e sem isolamento no tecto.

Estrados horizontais para recolha de fezes, a qual é feita com uma pá de arrasto.



Foto 13 – Pavilhão 3

AVIÁRIO D

Situa-se no concelho de Santa Cruz implantado a uma altitude de 600 a 700 metros acima do nível do mar. Possui 4 pavilhões destinados à produção de ovos incubáveis e um centro de incubação que pertence à mesma entidade empresarial.

- Características dos pavilhões:

São todos idênticos e do tipo “convencional” para reprodutoras, subdivididos em 2 alas separadas por um corredor central, onde é feita a recolha e triagem dos ovos.

Ninhos em madeira dispostos ao longo das alas laterais de cada pavilhão.

Camas e ninhos com aparas de madeira e sistema de ventilação natural.



Foto 14 – Pavilhão de reprodutoras

CENTRO DE INCUBAÇÃO

O centro de incubação é do tipo “one way” com as seguintes divisões:

Sala de recepção, armazenamento e triagem de ovos.

Sala de fumigação.

Sala de incubação com 3 incubadoras do tipo “multicarga”, estando apenas duas operacionais.

Sala de eclosão com 2 eclosoras e que simultaneamente funciona como sala de triagem de pintos.

Sala de lavagem e armazenamento de material.

Sala de expedição.



Foto 15 – Caixas de expedição de pintos do centro de Incubação

2 - Técnica de colheita das amostras e material utilizado na sua recolha

2.1. Amostras de superfície (jaulas e tapetes de recolha dos ovos)

As amostras de superfície foram recolhidas utilizando compressas de gaze (10x10 cm) esterilizadas em autoclave a 121°C durante 20 minutos e embaladas individualmente. Antes de procedermos à recolha das amostras, as embalagens foram abertas e com o auxílio de pinças esterilizadas embebemos as compressas em água peptonada tamponada. Depois de se retirar o excesso de líquido, as compressas foram arrastadas nas superfícies de amostragem e introduzidas em frascos contendo 250 ml de água peptonada tamponada.

2.2. Amostras de fezes, camas, poeira e ninhos

Estas amostras foram recolhidas, utilizando espátulas metálicas embaladas individualmente e esterilizadas a 121°C durante 20 minutos. Após a colheita, as amostras foram introduzidas em frascos contendo 250 ml de água peptonada tamponada.

2.3. Amostras de penugem

Estas amostras foram recolhidas utilizando espátulas metálicas esterilizadas e transportadas ao laboratório em sacos plásticos esterilizados.

2.4. Amostras de embriões mortos dentro da casca

Procedemos à recolha manual de ovos embrionados e não bicados, os quais foram transportados ao laboratório em sacos plásticos esterilizados.

2.5. Amostras de ovos de mesa e incubáveis

Foram recolhidos manualmente, com luvas esterilizadas, e transportados ao laboratório em tabuleiros apropriados a este tipo de amostras.

2.6. Amostras de sangue

A colheita de sangue foi efectuada por punção da veia alar e as amostras recolhidas em tubos de centrífuga plastificados.

3. Amostras recolhidas nos diferentes sectores de produção (16)

Tipo de instalação	Tipo de amostra	Quantidade de amostra
Poeiras	Sangues	15 /bando
	Cadáveres	Variável (depende da ocorrência de mortes no dia da recolha de amostras)
	Superfície das jaulas	2 Gazes / fila de baterias
	Tapete de recolha dos ovos	2 Gazes / fila de baterias
	Fezes	1 Amostra de cerca de 25 g por fila de baterias
	Poeira	1 Amostra de cerca de 25 g
	Ovos inteiros	10 a 15
	Ovos bicados ou partidos	10 a 15
	Ração	500 g em caso de haver uma descarga no dia da recolha de amostras

Tipo de instalação	Tipo de amostra	Quantidade de amostra
Reprodutoras	Sangues	15 /Bando
	Cadáveres	Variável (depende da ocorrência de mortes no dia da recolha de amostras)
	Ninhos	1 Gaze /12 ninhos /quarto de pavilhão *
	Mesa dos ovos	1 Gaze
	Poeira	10 a 25 g
	Camas	4 Amostras / pavilhão **
	Ovos incubáveis	10 (antes de se proceder à limpeza)
Ração	500 g em caso de descarga no dia de recolha das amostras	

Tipo de instalação	Tipo de amostra	Quantidade de amostra
Centro de Incubação	Penugem e detritos de eclosão	15 a 25 g de cada eclosora
	Embriões mortos dentro da casca	10 a 15 ovos
	Mecónio (tabuleiros das ecloras)	1 Gaze / 5 tabuleiros
	Mecónio (caixas de transporte expedição)	1 Gaze /5 caixas
	Pintos do dia	10 Pintos de refugio de cada bando eclodido

* Como cada bando de reprodutoras é alojado num pavilhão com 2 alas (esq. e dir.) separadas por um corredor central, as amostras são recolhidas em duplicado.

** Recolhidas debaixo dos bebedouros e de outras áreas humedecidas.

V- Métodos Bacteriológicos para pesquisa e Identificação de *Salmonella* nos diferentes tipos de amostras

1. Aves do dia

De cada lote de pintos eclodido, foi retirada 1 amostra de 10 unidades, a qual foi subdividida em 2 subamostras de 5 unidades cada, tendo a pesquisa de *Salmonella sp.* sido efectuada de acordo com o descrito no seguinte esquema descrito na página 33.

2. Aves de outras idades

Durante as visitas efectuadas aos pavilhões em produção e na eventualidade de ocorrência de mortalidade, os cadáveres foram recolhidos e a pesquisa de *Salmonella sp.* foi efectuada de acordo com o esquema da página 34.

3. Ovos de mesa e incubáveis

De cada visita efectuada retirámos 10 ovos inteiros e limpos e 10 ovos bicados. Cada amostra foi subdividida em 2 subamostras de 5 unidades cada, tendo a pesquisa de *Salmonella sp.* sido efectuada na casca e no conteúdo de acordo com o descrito na página 35.

4. Embriões mortos dentro da casca

De cada bando eclodido, retirámos 10 ovos embrionados e não bicados. Esta amostra foi subdividida em 2 subamostras de 5 unidades cada. A pesquisa de *Salmonella sp.* foi efectuada na casca e no embrião. Para tal, retirámos da superfície da casca uma amostra, utilizando uma gaze esterilizada e previamente humedecida em água peptonada tamponada. Do embrião, retirámos o fígado e intestino, após desinfecção da casca, sendo o procedimento de isolamento do agente idêntico ao descrito para os pintos do dia (pagina 33).

5. Penugem e detritos de eclosão

De cada eclosora retirou-se 1 amostra de cerca de 25 g, a qual foi processada, de acordo com o procedimento descrito para o meio ambiente (pagina 36).

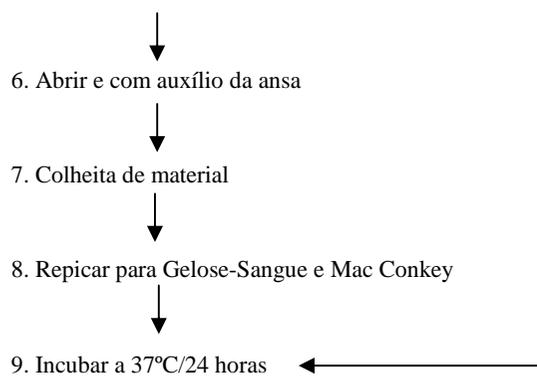
6. Amostras de fezes

Foram recolhidas directamente dos tapetes de recolha em quantidades de aproximadamente 25 g. O processamento das amostras foi feito de acordo com o descrito para as amostras do meio ambiente (página 36).

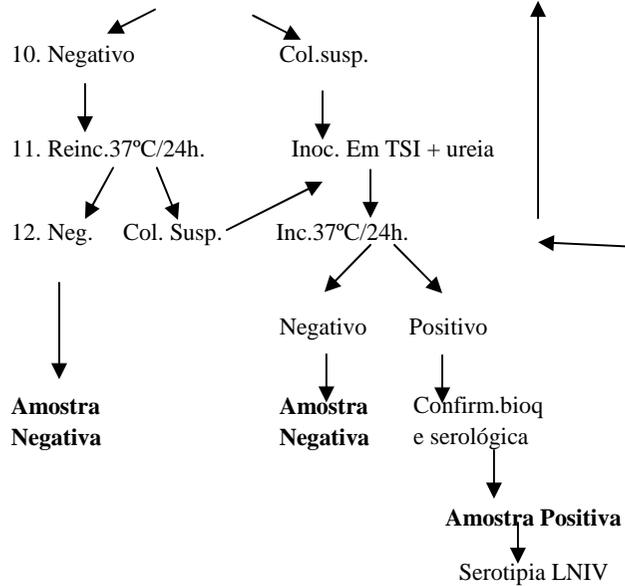
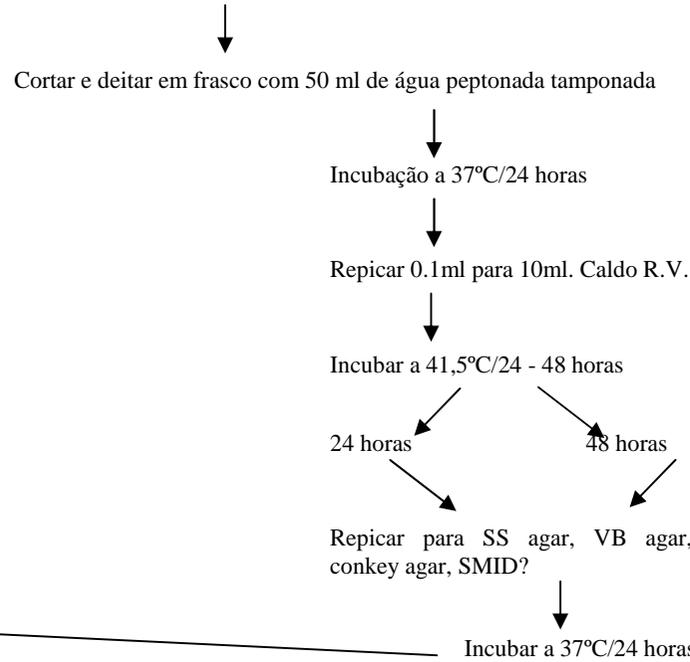
Esquema 1 -Técnica de isolamento de *Salmonella sp.* de cadáveres (16,8)

Aves do dia

1. Chamejamento das penas (asas, patas e abdómen)
2. Retirar a pele
3. Abrir a região abdominal com pinça e tesoura estéreis
4. Retirar a moela e o proventrículo, desprezando-os.
5. Expôr o saco vitelino

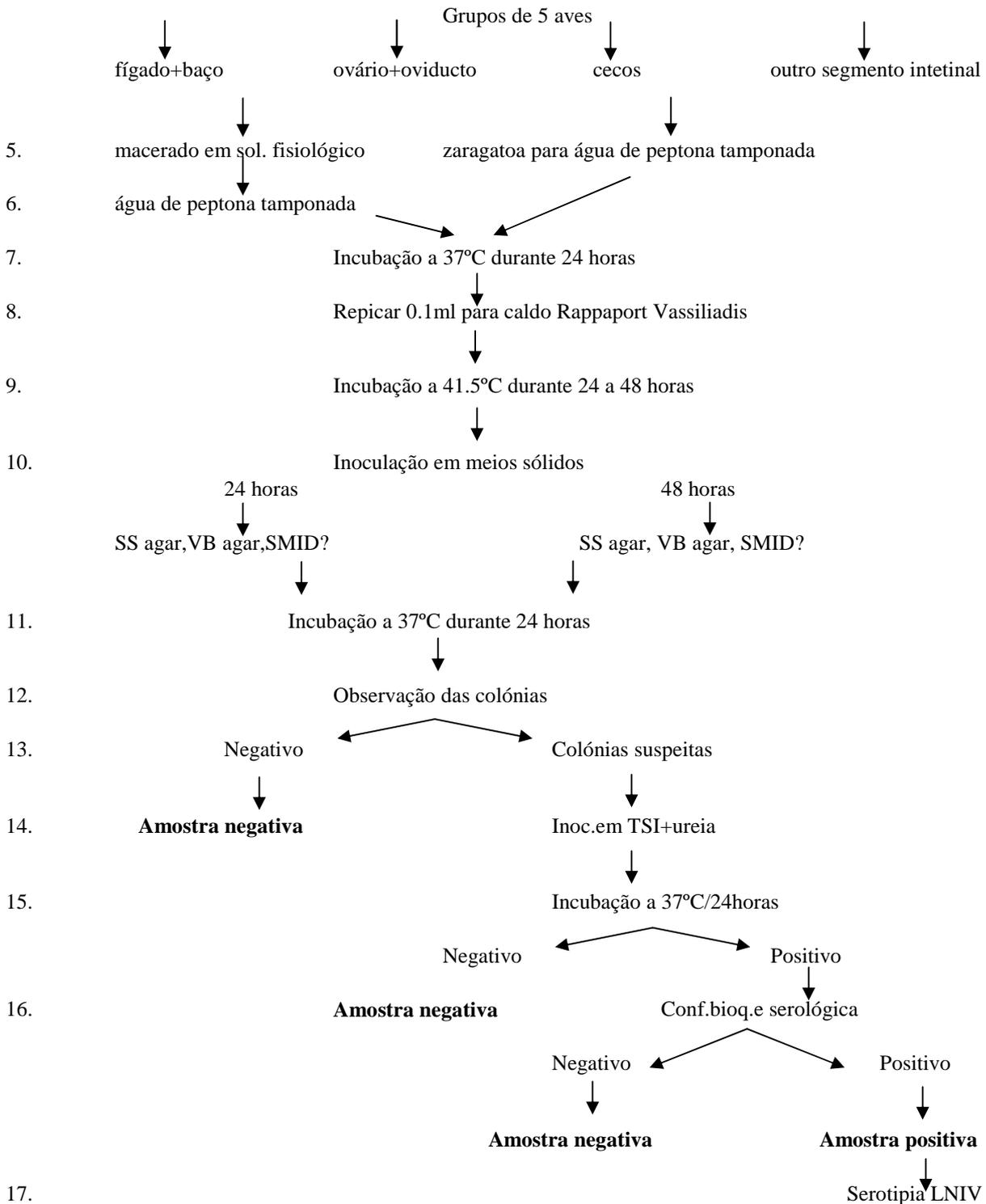


Expôr intestino+fígado+baço (grupos de 5 aves)

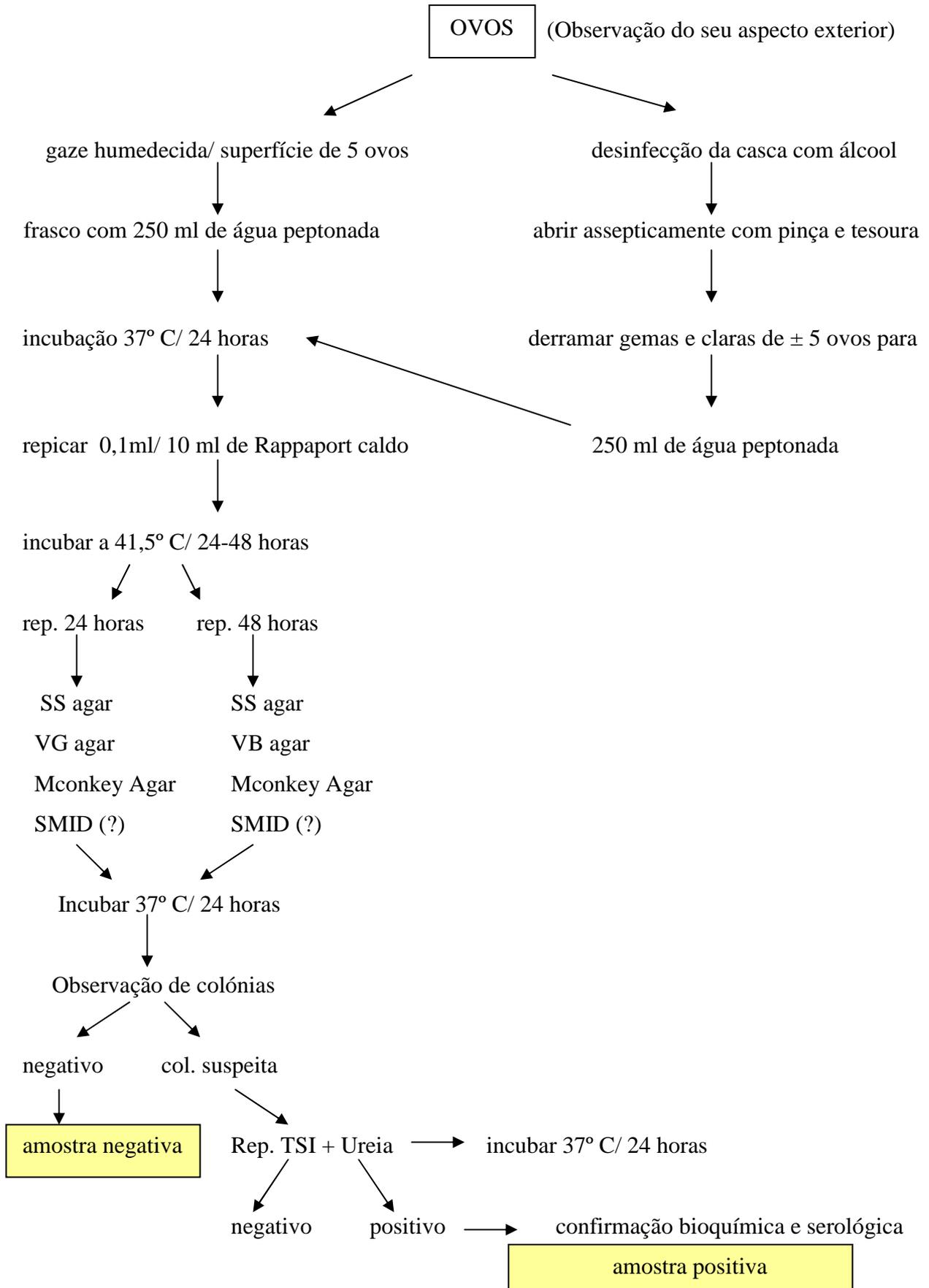


Esquema 2 - Aves de outras idades (16,8)

1. Retirar as penas e pele das aves expondo a musculatura do tórax e abdómen.
2. Chamejamento da superfície muscular com o bico de Bunsen.
3. Abrir o abdómen separando do externo com auxílio de pinça e tesoura estéreis.
4. Expor o fígado, baço, ovário, oviduto e intestinos.



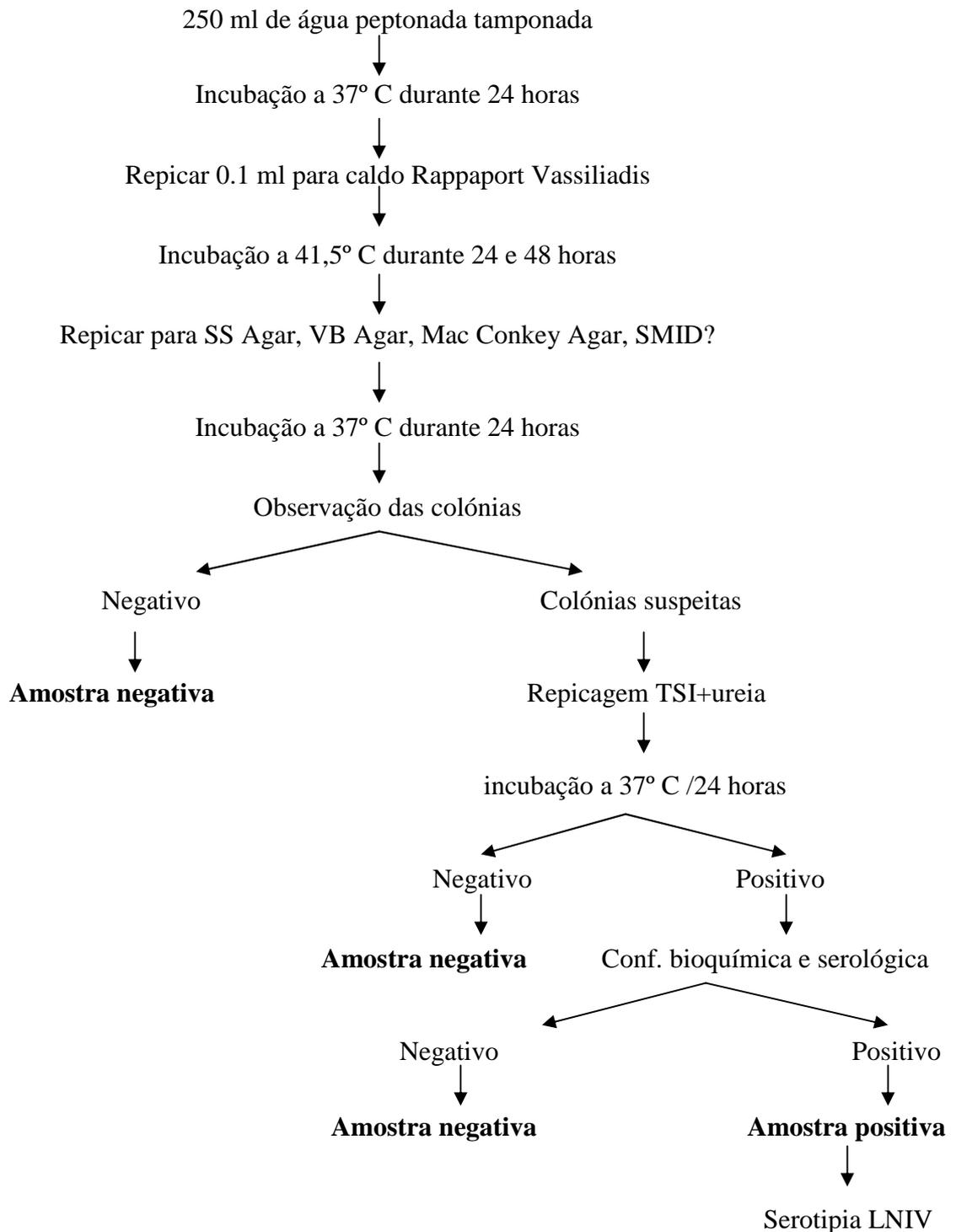
Esquema 4 - Protocolo sobre técnicas de isolamento de *Salmonella sp.* em ovos (16,8)



7 - Amostras de superfície e meio ambiente

Amostras retiradas das superfícies tais como: superfície das jaulas, tapetes de recolha de ovos, poeira, mecónio, fezes, camas e ninhos recolhidas com gaze humedecida ou espátula esterilizada para água peptonada tamponada.

Esquema 5 - Pesquisa de *Salmonella sp.* em amostras de superfícies e meio ambiente (16,8)



VI - PROVA DE AGLUTINAÇÃO RÁPIDA

Após centrifugação das amostras de sangue procedeu-se à Prova de Aglutinação Rápida no soro e de acordo com a seguinte técnica:

1. Após centrifugação das amostras, procedeu-se à separação do coágulo e do soro.
2. As amostras de soro e antigénio deverão ter atingido a temperatura ambiente antes de serem utilizados no teste.
3. A 20 µl de cada amostra de soro junta-se a mesma quantidade de antigénio *.
4. Agitar suavemente durante 2 minutos.
5. Ler os resultados. As amostras que dão reacções suspeitas ou positivas deverão ser retestadas após uma inactivação pelo calor a 56° C durante 30 minutos.

* Antigénio *Salmonella pullorum/ gallinarum* – LNIV- Benfica.

VII - RESULTADOS

1. AMOSTRAS PARA EXAME SEROLÓGICO

1. Amostras para exame serológico

1.1. Poedeiras

Tabela 8 – Resultados serológicos das amostras recolhidas em Poedeiras

Aviário	N.º dos pavilhões	N.º de amostras positivas	N.º de amostras negativas
A	1	0	30
	2	7	23
	3	6	24
B	1	2	28
	2	0	30
C	2	2	28
	3	2	28

1.2. Reprodutoras

Tabela 9 – Resultados serológicos das amostras recolhidas em Reprodutoras

Aviário	N.º dos pavilhões	N.º de amostras positivas	N.º de amostras negativas
D	3	6	9
	4	0	30
	1	1	29

1.3. Pintos do dia (Centro de Incubação)

Tabela 10 – Resultados serológicos das amostras recolhidas no Centro de Incubação

N.º de amostras	N.º de bandos	N.º de amostras positivas	N.º de amostras negativas
60	3	0	60

2. Outras Amostras

2.1. Poedeiras

Tabela 11 – Resultados obtidos nos três aviários de poedeiras

Aviário	N.º de pavilhões	Tipo de amostras	N.º de amostras	Amostras positivas para <i>S. enteritidis</i>	Amostras positivas para <i>S. typhimurium</i>
A	1 (1 bando)	Cadáveres	0	+	
		Fezes	8		
		Poeira	2		
		Superfície jaulas	8		
		Tapete dos ovos	8		
		Ovos	40		
	2 (1 bando)	Cadáveres	4	+	
		Fezes	8		
		Poeira	1		
		Superfície jaulas	8		
		Tapete dos ovos	8		
		Ovos	30		
	3 (1 bando)	Cadáveres	3	+	
		Fezes	8		
		Poeira	1		
		Superfície jaulas	8		
		Tapete dos ovos	8		
		Ovos	52		

Aviário	N.º de pavilhões	Tipo de amostras	N.º de amostras	Amostras positivas para <i>S. enteritidis</i>	Amostras positivas para <i>S. typhimurium</i>
B	1 (2 bandos)	Cadáveres	3		
		Fezes	7	+	+
		Poeira	2	+	+
		Superfície jaulas	7	+	
		Tapete dos ovos	7	+	+
		Ovos	45		
	2 (1 bando)	Cadáveres	1		
		Fezes	10		
		Poeira	2		
		Superfície jaulas	10		
		Tapete dos ovos	9		
		Ovos	50		

Aviário	N.º de pavilhões	Tipo de amostras	N.º de amostras	Amostras positivas para <i>S. enteritidis</i>	Amostras positivas para <i>S. typhimurium</i>
C	2 (1 bando)	Cadáveres	1		
		Fezes	6		
		Poeira	2		
		Superfície jaulas	6		
		Tapete dos ovos	6		
		Ovos	50		
	3 (1 bando)	Fezes	15		
		Poeira	2		
		Superfície jaulas	15		
		Tapete dos ovos	15		
		Ovos	50		

2.2. Reprodutoras e Centro de Incubação

Tabela 12 – Resultados obtidos no aviário de Multiplicação e Centro de Incubação

Aviário	N.º de Pavilhões	Tipo de amostras	N.º de amostras	Amostras positivas para <i>S. enteritidis</i>
D	3 (1 bando Testado apenas 1 vez)	Cadáveres	2	
		Poeira	2	
		Camas	4	
		Ninhos	8	+
		Mesa triagem dos ovos	1	+
		Penugem e detritos das eclororas	1	
		Embriões mortos dentro da casca	10	
		Mecónio tabuleiros das eclororas	1	
		Mecónio caixas de transporte	1	
		Pintos do dia	10	
	4 (1 bando)	Poeira	3	
		Camas	8	
Ninhos		14		
Fezes		2		
Mesa triagem dos ovos		2		
Penugem e detritos das eclororas		3		
Embriões mortos dentro da casca		30		
Mecónio tabuleiros das eclororas		1	+	
Mecónio caixas de transporte		1	+	
Pintos do dia		10		
1 (1 bando)	Poeira	3	+	
	Camas	8		
	Ninhos	16	+	
	Mesa triagem dos ovos	1		
	Penugem e detritos das eclororas	2		
	Embriões mortos dentro da casca	20		
	Mecónio tabuleiros das eclororas	2	+	
	Mecónio caixas de transporte	2		
	Pintos do dia	20	+	

3. TESTES DE SENSIBILIDADE AOS ANTIBIÓTICOS E QUIMIOTERÁPICOS

Tabela 13 – Testes de sensibilidade aos antibióticos e quimioterápicos das estirpes de *Salmonella* isoladas

Antibiótico	Sensível		Pouco sensível		Resistente	
	N.º	%	N.º	%	N.º	%
Ácido oxolínico	0	0	0	0	5	100
Aminosidina	4	57.14	2	28.57	1	14.28
Amoxicilina	3	50	1	16.66	2	33.33
Ampicilina	4	50	4	50	0	0
Cefalexina	3	42.85	2	28.57	2	28.57
Cloranfenicol	5	71.42	0	0	2	28.57
Colistina	7	87,5	1	12,5	0	0
Dicloxacilina	2	33.33	2	33.33	2	33.33
Enrofloxacina	7	100	0	0	0	0
Estreptomicina	5	71.42	0	0	2	28.57
Ácido nalidíxico	6	85.71	0	0	1	14.28
Flumequina	7	87,5	1	12,5	0	0
Furazolidona	2	33.33	2	33.33	2	33.33
Gentamicina	6	85.71	1	14.29	0	0
Kanamicina	5	62,5	2	25	1	12,5
Lincomicina	0	0	0	0	7	100
Neomicina	3	42.85	3	42.85	1	14.28
Nitrofurantoína	0	0	5	71.43	2	28.57
S X T	5	83.33	1	14.28	0	0
Vancomicina	0	0	0	0	7	7

Por lapso não foi testada a sensibilidade de algumas estirpes em relação a alguns antibióticos e quimioterápicos.

Após o isolamento de *Salmonella sp.* segundo as técnicas descritas anteriormente no capítulo V, efectuámos o teste de sensibilidade aos antibióticos, utilizando o “método dos discos” em placa de Agar Mueller Hinton, previamente inundada com uma suspensão em soluto fisiológico da cultura a testar.

Ao observarmos os resultados obtidos na tabela (13), podemos constatar que a Enrofloxacina foi eficaz em todas as estirpes isoladas.

No que diz respeito aos restantes antibióticos e quimioterápicos respectivamente, Flumequina, Colistina, Gentamicina, Sulfa-Trimetropin, foram eficazes em mais de 80% das estirpes, não se tendo registado casos de resistência.

Em trabalhos anteriores a Enrofloxacina foi considerada a droga mais efectiva contra a *Salmonella enteritidis*. O tratamento de “exclusão competitiva” (5), ou seja a administração de bactérias benéficas à colonização do intestino das aves, reduzem consideravelmente a incidência de *Salmonella*, principalmente se efectuado em simultâneo com a Enrofloxacina (17).

Trabalhos realizados ao longo das últimas três décadas demonstraram que a sensibilidade da *Salmonella* aos antibióticos se tem alterado profundamente, verificando-se um acentuado paralelismo entre os perfis dos serótipos isolados em animais e os encontrados nos humanos.

VIII - INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Antes de passarmos à interpretação dos resultados, gostaríamos de tecer algumas considerações em relação às provas serológicas, as quais servem para identificar bandos infectados, embora por si só não tenham muito significado e seja sempre necessária uma confirmação bacteriológica.

Como sabemos, há mais de 50 anos que se utiliza a Prova de Aglutinação Rápida utilizando o antigénio *Salmonella pullorum/gallinarum* corado pelo cristal violeta. Este serotipo não constitui qualquer problema na indústria avícola actual, podendo surgir muito esporadicamente em aves criadas em “regime caseiro”. No entanto, como pertence ao mesmo grupo de antigénios somáticos de *S. enteritidis* e *S. typhimurium* (grupo D), poderá ser utilizado para rastreio de infecção causada pelos serótipos acima mencionados (16).

Actualmente em alguns países europeus, nomeadamente a Holanda, é a prova de ELISA, utilizando a *S. enteritidis*, que é mais largamente empregue para a monitorização e rastreio da infecção.

Na Prova de aglutinação Rápida realizada por nós durante o trabalho, temos em relação às aves poedeiras, respostas imunológicas nos Aviários A e B (tabela 8), as quais foram confirmadas bacteriológicamente pelo isolamento de *Salmonella* em algumas das amostras recolhidas (tabela 11). Em relação ao Aviário C, temos respostas imunológicas (tabela 8) não confirmadas por análise bacteriológica (tabela 11), ou seja, as aves não estão a excretar *Salmonella*, embora os níveis de Imunoglobulinas circulantes ainda sejam elevados e detectáveis.

No que diz respeito às **reprodutoras**, apenas nos bandos que reagiram à Prova de Aglutinação Rápida (tabela 9) e instalados nos pavilhões 1 e 3 respectivamente, houve uma confirmação bacteriológica com isolamento de *S. enteritidis* de algumas amostras recolhidas nos pavilhões que alojavam os bandos acima referidos (tabela 12). Em relação ao bando alojado no pavilhão 4, não houve resposta serológica (tabela 9) nem confirmação bacteriológica (tabela 12), pelo que no Centro de Incubação isolou-se *Salmonella* das amostras de mecónio dos pintos provenientes desse mesmo bando (tabela 12). Tal facto leva-nos a pensar que a infecção dos pintos poderá ter tido origem no próprio Centro de Incubação e não no bando progenitor.

Gostaríamos de referir que todos os bandos de reprodutores testados foram submetidos ao tratamento preventivo de “exclusão competitiva” ao 1º dia de idade, tendo sido repetido no “pico de postura” apenas num dos bandos.

Em relação às **aves do dia**, a sua resposta serológica foi sempre negativa (tabela 12), pois são seres imunologicamente imaturos e incapazes de responder serologicamente ao antigénio somático lipossacárido (16).

Como referenciamos anteriormente, a pesquisa de *Salmonella* terá que ser sempre efectuada quando pretendemos rastrear um bando, pois o teste serológico, qualquer que seja, não pode por si só definir o estado sanitário do mesmo em relação à infecção.

O mesmo se passa em relação ao exame bacteriológico, pois o facto da pesquisa ser negativa não significa que o bando seja considerado livre de infecção. É portanto necessário fazer um rastreio periódico ao longo do ciclo de produção das aves que, para o caso das **poedeiras e reprodutoras**, deverá ser de dois em dois meses (18) e após o início da postura.

Salientamos que no Aviário C não foi isolada qualquer estirpe de *Salmonella* nos dois bandos em produção e em todas as visitas efectuadas.

No Aviário B, o isolamento de *Salmonella* ocorreu apenas num dos pavilhões que na 1ª visita efectuada, alojava um bando bastante idoso (21 meses) e depois reformado. Na 2ª visita, apenas duas filas de baterias eram ocupadas por um bando no “pico de postura” e as restantes por outro bando de idade diferente (não testado). Em ambas as visitas, pudemos constatar que o pavilhão estava em deficientes condições higiosanitárias e de manutenção, com grande acumulação de fezes, insectos e até a presença de roedores. Foram isolados ambos os serótipos *S. typhimurium* e *S. enteritidis* nas amostras provenientes da superfície das jaulas, tapetes de recolha dos ovos e poeira.

Em relação ao Aviário A, efectuamos visitas aos três pavilhões de produção, os quais se encontravam em boas condições higiosanitárias e de manutenção. Foi isolada *S. enteritidis* nos três bandos e das amostras provenientes da superfície das jaulas e tapetes de recolha de ovos.

No que diz respeito às amostras de **ovos de mesa** que na sua totalidade representou uma grande quantidade, igual a 317, nunca isolamos *Salmonella* tanto da casca como do conteúdo (gema e clara).

No que se refere às **reprodutoras**, as amostras para exame bacteriológico foram recolhidas não só nos pavilhões que alojavam os bandos progenitores como também no centro de incubação. Observando a tabela (12) e em relação aos primeiros, apenas o bando alojado no pavilhão 4 foi

negativo à pesquisa de *Salmonella* nas duas visitas efectuadas durante o nosso trabalho. Quanto aos bandos alojados nos pavilhões 1 e 3, o despiste de *Salmonella* resultou positivo tendo o serotipo sido identificado como *S. enteritidis*.

Em relação às amostras provenientes do **Centro de Incubação** e analisando a tabela (12) verificámos que apenas na descendência dos bandos alojados nos pavilhões 1 e 4 foi identificada *S. enteritidis*. Referenciámos atrás que relativamente ao primeiro, a infecção da descendência poderá ter tido origem nos progenitores ao contrário do segundo em que a infecção provavelmente tem origem no próprio Centro de Incubação.

Salientamos que o número de amostras positivas à pesquisa de *Salmonella* expostas nas tabelas (11) e (12) não estão quantificadas.

IX – CONCLUSÃO

Consideramos que a importância principal do rastreio da infecção salmonélica nos diferentes bandos em produção é a identificação dos mesmos como “infectados” ou “não infectados”.

Tal como dissemos anteriormente o rastreio deverá ser periódico e ao longo de toda a vida produtiva do bando, pois as aves portadoras normalmente não exibem qualquer sintomatologia e a excreção do microrganismo poderá ser contínua ou intermitente. Assim, no caso das aves **poedeiras**, a infecção dos ovos, tanto por via transovárica como por contaminação fecal, poderá condicionar o aparecimento de um surto de toxinfecção alimentar nos consumidores.

No respeitante às **reprodutoras** a infecção dos ovos processa-se de modo idêntico às poedeiras, levando ao aparecimento de mortalidade embrionária ou doença após nascimento. As aves que atingem o abate poderão ainda albergar o agente, podendo o manuseamento da carcaça a nível do Centro de Abate (escaldão, evisceração) condicionar uma eventual contaminação de outras carcaças. Um tratamento térmico deficiente ou más condições de armazenamento das mesmas poderão originar o aparecimento de uma toxinfecção alimentar.

Face ao exposto consideramos de primordial importância a continuação deste trabalho e o seu alargamento a outros aviários, pois reverte-se de grande importância não só pela sua repercussão na saúde pública, mas também pelas perdas económicas que podem advir de uma infecção massiva por este microrganismo, nos sectores de produção.

X – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BERNARDO, F.M.A., 1992. Resistência aos antibióticos em Salmonella. In: Veterinária Técnica. 38-43 – Junho 1992.
2. CARTER, G.R., (1978). Diagnostic Procedures in Veterinary Bacteriology and Mycology. 3ª edição.
3. CRUICKSHANK, R. et al., (1975). Medical Microbiology. 2ª edição.
4. DAVIES, E.T., (1989), Manual de Investigação Veterinária. Ed. Acribia, S.A.
5. Day, Carol A, (1992). Competitive exclusion in poultry.
6. FERREIRA, J.A., 1976. Doenças Infecto-Contagiosas dos Animais Domésticos. 3ª edição. Fundação Calouste Gulbenkian.
7. INE – D.G.Saúde – Listagem de Doenças de Declaração Obrigatória anos 1995, 1996, 1997 e 1998.
8. Iso 6579 – General guidance on methods for the detection of Salmonella (1993/09/01).
9. KRIEG, N.R., HOLT, J. G. et al., 1984. Bergey`s Manual of Systematic Bacteriology, vol. 1. Editorial Bord.
10. LNETI, 1992. Microbiologia Aplicada às Indústrias Alimentares. In: LNETI/DTIA n.º 38- Estudos e documentos - 7. 4ª Edição.
11. LNIV e INSRJ (Laboratório Nacional de Investigação Veterinária e Instituto Nacional de Saúde Ricardo Jorge) - 1999 – Vigilância Epidemiológica Laboratorial de Enterobacteriaceae – Informação N.º 1.
12. Manual Oxoid. 1995.
13. Pessoa, Sérgio, (1965). Noções fundamentais acerca de produção de ovos e de carne. Junta Geral do Distrito Autónomo do Funchal. 3ª edição.
14. Relatório de actividades da D.R.P. (Serviços de Microbiologia Clínica e Bromatologia) anos de 1999 e 2000.

15. Serviço de Patologia Clínica do H.C. Carvalho (fichas clínicas) anos de 1998,1999 e 2000.
16. Wray.C., Davies R.H. (Abril 1994). Guidelines on detection and monitoring of Salmonella infected poultry flocks with particular reference to Salmonella enteritidis – W.H.O.
17. <http://agri.gov.ns.ca/pt/lives/poultry/health/salmon.htm> - Breakthrough in Salmonella Enteritidis (SE) treatment.
18. http://www.sonic.net-melissk/salm_prec.html - Salmonella – What it is who is at risk, How to protect your self.
19. <http://www.cnn.cow/HEALTH/9812/29/salmonella.cancer/> - Salmonella may have use as cancer fighter.
20. <http://www.eurosurv.org/> Eurosurveillance – European Community.
21. <http://www.medic.Med.uth.twc.edu/path/oooo1520.htm>.

XI – Anexos

Anexo I

COLHEITA E ENVIO DE MATERIAL PARA PESQUISA DE *SALMONELLA* CENTRO DE INCUBAÇÃO

Identificação do Centro	<input type="text"/>	
Data da visita	<input type="text"/>	
Eclusão	Bando	Idade
	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Eclodibilidade	Bando	%
	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Peso médio pinto do dia	Bando	Peso médio
	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	<input type="text"/>	<input type="text"/>
N.º da incubadora	Bando	N.º
	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	<input type="text"/>	<input type="text"/>
N.º da eclosora	Bando	N.º
	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	<input type="text"/>	<input type="text"/>

Data de postura dos ovos

Bando

Data

Data de recepção dos ovos no Centro

Bando

Data

Temp. da sala de armazenamento dos ovos

Temp. média da incubadora

Temp. média da eclosora

% média de humidade na incubação

% média de humidade na eclosora

Características do Centro de Incubação:

Impressão geral sobre a higiene das instalações, equipamento e pessoal

Obs.

Material colhido

Penugem e detritos da eclosora

Bando

N.º da eclosora

Embriões mortos dentro do ovo

Bando

N.º

Mecónio

.mesas de triagem dos pintos

Bando

N.º

.caixas de transporte dos pintos

Bando

N.º

Pintos do dia

Bando

N.º

Sangues pintos do dia

Bando

N.º

Resultados

Análise serológica

N.º

Bando

Positivos

Negativos

Cadáveres

N.º

Bando

Positivo

Negativo

Penugem e detritos da eclosora

N.º

Bando

Positivo

Negativo

Mecónio

N.º

Bando

Positivo

Negativo

.mesas de triagem
(caixas das ecloso-
ras)

.caixas de
transporte

		<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
		<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Pintos do dia		N.º	Bando	Positivo	Negativo
		<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
		<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
		<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Embriões mortos dentro da casca		N.º	Bando	Positivo	Negativo
		<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
		<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
		<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Obs.	API 20 E	<input type="text"/>		<input type="text"/>	
	API Rapid 20 E	<input type="text"/>		<input type="text"/>	
	Aglutinação antisoro Poly AI - Vi	<input type="text"/>			
	Serotipia da cultura isolada	<input type="text"/>			

Elaborado por:
Dr.^a Lurdes Clemente

ANEXO II

COLHEITA E ENVIO DE MATERIAL PARA PESQUISA DE "*SALMONELLA*"

Identificação do Aviário	<input type="text"/>			
Nº do pavilhão	<input type="text"/>			
Data da visita	<input type="text"/>			
Efectivo inicial	<input type="text"/>			
Estirpe	<input type="text"/>			
Efectivo actual	<input type="text"/>			
Idade início da postura	<input type="text"/>			
Idade pico da postura	<input type="text"/>			
Idade de recepção das aves na exploração	<input type="text"/>			
Fase cria/recria	dentro	<input type="text"/>	fora	<input type="text"/>
Pico de postura	<input type="text"/>		<input type="text"/>	
% de postura	<input type="text"/>		<input type="text"/>	
% de mortalidade	<input type="text"/>		<input type="text"/>	
Bando submetido a "muda"	sim	<input type="text"/>	não	<input type="text"/>
Idade de início da "muda"	<input type="text"/>			
Duração da "muda"	<input type="text"/>			
% de postura após a "muda"	<input type="text"/>			
% de mortalidade após a "muda"	<input type="text"/>			
Idade actual	<input type="text"/>			

Características do pavilhão:

Impressão geral sobre a higiene das instalações, equipamentos e pessoal

Obs.

Material colhido

N.º de sangues	<input type="text"/>
N.º de cadáveres	<input type="text"/>
Ração	<input type="text"/>
Amostra de poeira	<input type="text"/>
Amostras de fezes	<input type="text"/>
Amostras da superfície das jaulas	<input type="text"/>
Amostras dos tapetes de ovos	<input type="text"/>
Ovos	<input type="text"/>
Caixas de transporte de aves	<input type="text"/>
Pintos mortos ou abatidos	<input type="text"/>
Outros	<input type="text"/>

Resultados

	N.º de anál.	Positivos	Negativos
Análise serológica	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Análise microbiológica			
Cadáveres		Positivo	Negativo
Fígado+baço	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Ovário+oviducto	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Intestino+cecos	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Ração	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Poeira	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Fezes	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Jaulas	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Tapete de ovos	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Ovos normais	N.º de anál.	Positivo	Negativo
Casca	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Gema+Clara	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Ovos alterados (bicados)			
Casca	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Gema+Clara	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Caixas de transporte de aves	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Pintos mortos ou abatidos	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Outros	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

Obs.	API 20 E	<input type="text"/>
	API Rapid 20 E	<input type="text"/>
	Aglut.antisoro Poly Ai-Vi	<input type="text"/> <input type="text"/>
	Serotipia da cultura isolada	<input type="text"/>

Elaborado por:
Dr.ª Lurdes Clemente

ANEXO III

COLHEITA E ENVIO DE MATERIAL PARA PESQUISA DE " SALMONELLA "

REPRODUTORAS

Identificação do Aviário		<input type="text"/>
Nº.do pavilhão		<input type="text"/>
Data da visita		<input type="text"/>
Efectivo inicial	Machos	<input type="text"/>
	Fêmeas	<input type="text"/>
Estirpe		<input type="text"/>
Efectivo actual	Machos	<input type="text"/>
	Fêmeas	<input type="text"/>
Idade início de postura		<input type="text"/>
Idade recepção das aves na exploração		<input type="text"/>
Fase cria /recria	dentro	<input type="text"/>
Pico de postura		<input type="text"/>
% de postura		<input type="text"/>
% de mortalidade	Machos	<input type="text"/>
	Fêmeas	<input type="text"/>
Idade pico de postura		<input type="text"/>
% de fertilidade		<input type="text"/>
% de eclodibilidade		<input type="text"/>
Idade actual		<input type="text"/>
Peso médio dos ovos		<input type="text"/>

Características do pavilhão:

Impressão geral sobre a higiene das instalações, equipamentos e pessoal:

Material colhido

Nº de sangues	<input type="text"/>
Nº de cadáveres	<input type="text"/>
Ração	<input type="text"/>
Amostra de poeira	<input type="text"/>
Amostras de cama	<input type="text"/>
Amostras dos ninhos	<input type="text"/>
Amostras mesa dos ovos	<input type="text"/>
Amostras de fezes	<input type="text"/>

Resultados

	Nº de anál.	Positivos	Negativos
Análise serológica	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Análise microbiológica			
Cadáveres		Positivo	Negativo
Fígado + baço	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Ovário + oviducto	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Intestino + cecos	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Ração	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Poeira	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Fezes	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Camas	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

	Nºde anál.	Positivo	Negativo
Ninhos	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Mesa dos ovos	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Obs.	API 20 E	<input type="text"/>	
	API Rapid 20E	<input type="text"/>	
	Aglut.antisoro Poly AI - Vi	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	Serotipia cultura	<input type="text"/>	

Data	O estagiário	O orientador
<hr/>	<hr/>	<hr/>

Elaborado por:
Dr.^a Lurdes Clemente