

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

STHÉFANY DA CUNHA DIAS

**VIRULÊNCIA DE *Salmonella* spp. ISOLADAS DE CARÇAÇAS DE FRANGOS
ABATIDOS NO MUNICÍPIO DE UBERLÂNDIA - MG**

UBERLÂNDIA

2019

STHÉFANY DA CUNHA DIAS

**VIRULÊNCIA DE *Salmonella* spp. ISOLADAS DE CARCAÇAS DE FRANGOS
ABATIDOS NO MUNICÍPIO DE UBERLÂNDIA - MG**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à coordenação do curso de graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial à obtenção do título de Médico Veterinário.

Orientador: Prof. Dr. Marcus Vinícius Coutinho Cossi

UBERLÂNDIA

2019

STHÉFANY DA CUNHA DIAS

**VIRULÊNCIA DE *Salmonella* spp. ISOLADAS DE CARCAÇAS DE FRANGOS
ABATIDOS NO MUNICÍPIO DE UBERLÂNDIA - MG**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado à coordenação do curso de
graduação em Medicina Veterinária da
Universidade Federal de Uberlândia,
como requisito parcial à obtenção do
título de Médico Veterinário.

Orientador: Prof. Dr. Marcus Vinícius
Coutinho Cossi

Uberlândia, 11 de julho de 2019

Banca Examinadora

Prof. Dr. Marcus Vinícius Coutinho Cossi
Universidade Federal de Uberlândia

Prof^ª. Dr^ª. Kênia de Fátima Carrijo
Universidade Federal de Uberlândia

M.V. Karina Sonalio
Universidade Federal de Uberlândia

UBERLÂNDIA

2019

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família pelo carinho e pelo suporte financeiro para que eu concretize o sonho da graduação em Medicina Veterinária.

A Deus por ter permitido e me dado forças e esperança para que me mantivesse focada no meu objetivo.

Ao meu orientador professor Marcus, pela oportunidade de trabalho, amizade, conhecimentos compartilhados, por ser um profissional o qual me inspiro e ter me apresentado a área de atuação que vou seguir dentro da Medicina Veterinária.

Aos amigos que sempre estiveram presentes, fisicamente ou não, que fizeram os dias mais leves, engraçados e contribuíram para fazer da graduação a melhor fase da minha vida.

Ao Programa de Educação Tutorial do curso de Medicina Veterinária pelo aprendizado, experiências compartilhadas e amizade.

A equipe do laboratório de Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal – FAMEV/UFU, em especial Débora, Yago, Amanda, Priscila, Letícia e Alexandre, que me auxiliaram nessa e em outras pesquisas e foram importantes para a conclusão do meu trabalho. A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, minha gratidão eterna.

RESUMO

A avicultura se destaca mundialmente como uma produção de grande escala, rentável, altamente tecnicizada, com ótimos índices de qualidade e com projeções de crescimento na produção, exportação e consumo. Assim como acontece em outros animais de produção, as aves podem ser carreadoras de microrganismos patogênicos que comprometem a qualidade da carne e a saúde do consumidor, dentre eles destaca-se a bactéria do gênero *Salmonella* spp. A salmonelose é uma doença de caráter zoonótico, causadora de manifestações gastroentéricas e sua gravidade varia de acordo com a susceptibilidade do hospedeiro, a carga de infecção e o perfil de virulência expressado pelo patógeno. O objetivo do trabalho foi identificar e caracterizar o perfil de virulência de *Salmonella* spp isoladas de carcaças de frangos abatidos em um abatedouro frigorífico localizado em Uberlândia. Para isso, foram coletadas amostras por enxágue superficial de 90 carcaças de frango em duas etapas do abate (A = após a sangria e antes da escaldagem; B = após a saída do tanque de pré-resfriamento). A identificação de *Salmonella* spp em cada amostra foi feita de acordo com a ISO 6579 e para confirmação foi utilizada PCR (gene *ompC*). Os isolados confirmados foram testados para os genes de virulência: *agf*, *lpf*, *sefA* e *invA*. Dos 10 isolados confirmados para *Salmonella* spp, todos foram identificados como sendo pertencentes ao sorovar Newport, 30% foram positivos para o gene *invA* e todos foram negativos para os demais. Compreende-se que apesar da baixa prevalência destes genes no microrganismo analisado, ainda há o risco de aquisição destes dentro do fluxo de produção via transferência direta entre as bactérias. Desse modo, a presença de *Salmonella* com potencial patogênico é uma realidade dentro da linha de abate, evidenciando a importância de programas de autocontrole e higiene operacional desde a granja até o abatedouro, com o intuito de reduzir a presença de patógenos, produzir um alimento inócuo e preservar a saúde do consumidor.

Palavras-chave: Avicultura. Genes de virulência. Patógeno alimentar. Zoonoses.

ABSTRACT

Poultry stands out worldwide as a large-scale, profitable, highly-skilled production with excellent quality indices and growth projections in production, export and consumption. As in other production animals, such as birds can be found in microorganisms pathogenic to meat compromise and consumer health, among which is a bacterium of the genus *Salmonella* spp. *Salmonella* is a zoonotic disease that causes gastroenteric manifestations and its severity varies according to the host susceptibility, the infection load and the virulence profile expressed by the pathogen. The objective of this work was to identify and characterize the virulence profile of *Salmonella* spp the carcasses of chickens slaughtered in a slaughterhouse located in Uberlândia. For this purpose, the superficial surface samples of 90 degrees of chicken were collected in two stages (A = after bleeding and before scalding, B = after the exit of the pre-cooling tank). *Salmonella* spp was measured according to ISO 6579 and was based on PCR (*ompC* gene). The confirmed mice were tested for the virulence genes: *agf*, *lpf*, *sefA* and *invA*. 10 colony were confirmed for *Salmonella* spp, and all were considered as belonging to the Newport serotype, 30% were positive for the *invA* gene and all were negative for the others. Understanding the genes of microorganisms in their microinsurance systems, there is still the risk of obtaining most of the flow of production through direct transfer between bacteria. Thus, the presence of *Salmonella* with pathogenic potential is a reality in the slaughterhouse, evidencing the importance of program of self-control and operational hygiene from the farm to the slaughterhouse, in order to protect the consumer.

Key-words: Food pathogen. Poultry farming. Zoonoses. Virulence genes

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 REVISÃO LITERATURA	10
2.1 <i>Importância econômica da avicultura</i>	<i>10</i>
2.2 <i>Salmonella spp e sua importância para a saúde pública</i>	<i>12</i>
2.3 <i>Genes de virulência em Salmonela spp</i>	<i>14</i>
3 MATERIAL E MÉTODOS	16
3.1 <i>Caracterização do local de coleta</i>	<i>16</i>
3.2 <i>Caracterização da coleta de amostras</i>	<i>16</i>
3.3 <i>Identificação de Salmonella spp e pesquisa por genes de virulência.....</i>	<i>16</i>
3.4 <i>Análise de dados</i>	<i>18</i>
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
5 CONCLUSÃO.....	20
REFERÊNCIAS	21

1 INTRODUÇÃO

A avicultura é uma área de produção muito importante no mundo inteiro e continua em constante crescimento e desenvolvimento. Os países que mais produzem carne avícola são os Estados Unidos, Brasil, União Europeia, China e Índia (USDA, 2019). No Brasil, a produção de frangos de corte atinge níveis tecnológicos avançados e intensivos, auxiliando assim, no abastecimento de proteína com valor mais acessível para a população e contribuindo para a economia do país (RICHETTI et al., 2000).

A produção de carne de frango brasileira é a segunda maior do mundo, tendo produzido um total de 13,06 milhões de toneladas no ano de 2017 e destas, 67% foram destinadas ao mercado interno, enquanto 33% para exportação (ABPA, 2018). O estado de Minas Gerais representa 7% do abate inspecionado de aves (IBGE, 2018), sendo Uberlândia o município que se destaca como o maior criador, representando 12% de participação nos índices do estado (PPM, 2017).

Os diferentes sistemas de criação de frango se diferem quanto a forma de alimentação e local de produção. A partir da modernização do setor, iniciou-se o sistema de produção integrado, em que as grandes empresas fornecem subsídios para que pequenos produtores criassem as aves que eles iriam abater mediante a comprovação de estrutura adequada para recebimento dos animais (RODRIGUES et al., 2014; TAVARES et al., 2007). Devido a isso, a avicultura nacional criou condições para que se tornasse competitiva mundialmente (RODRIGUES et al., 2014; BELUSSO et al., 2010).

O frango caipira é criado de forma a mimetizar o ambiente natural, ingerindo pastagens, insetos, entre outros (SILVA et al., 2003). Em consequência disto, o tempo de produção se eleva, junto com ela a deposição de carne na carcaça e o aumento de pele (SANTOS et al., 2005). Segundo a Normativa Brasileira (NBR) 16389:2015 que padroniza a criação de frangos caipira, os animais são confinados até os 30 dias de vida e, posteriormente, mantidos em piquetes e a utilização de suplementação com minerais deve ser mínima. O abate é realizado com o mínimo de 70 dias e o uso de medicamentos é permitido somente para tratamento do plantel, não sendo administrado profilaticamente (ABNT, 2015).

A vantagem dos sistemas não intensivos de criação é o fornecimento de maior bem-estar, promovendo um ambiente parecido com o natural, reduzindo o estresse dos animais e melhorando a qualidade da carne (NAZARENO et al., 2008; SAVINO et al., 2007). No entanto, esse tipo de sistema pode colocar em dúvida a qualidade do controle sanitário

realizado e também os níveis de carga microbiológica nestes ambientes, devido à forma de criação não impor um manejo tão completo quanto o que é realizado em granjas tecnificadas, refletindo diretamente no produto final (BELUSSO et al., 2010).

Independentemente do sistema de criação utilizado na produção avícola, o controle sanitário dos lotes de animais é extremamente importante, pois a carne de frango tem um importante destaque na transmissão da bactéria *Salmonella* spp, podendo levar à ocorrência de casos de salmonelose, doença de caráter zoonótico, que pode se caracterizar com sinais clínicos de diarreia, dor abdominal e, em casos mais severos, levar o doente a morte (WHO, 2017). As infecções por esta bactéria são determinadas pela situação imunológica do hospedeiro e a capacidade de causar a doença expressa pelo microrganismo. Ou seja, a susceptibilidade do hospedeiro vai de encontro à virulência expressada pela bactéria (VIEIRA,2009).

Os fatores de virulência são expressos em regiões móveis ou específicas do DNA da bactéria e determinam a potencialidade do microrganismo em causar alguma enfermidade (VAN ASTEN et al., 2005). A pesquisa destes genes é de extrema importância para identificar e mensurar a patogenicidade da bactéria, de modo que esta descrição seja um agente facilitador na construção de medidas de controle e fiscalização (MENDONÇA,2016).

O presente trabalho tem como objetivo identificar e caracterizar o perfil de virulência de *Salmonella* spp isoladas de carcaças de frango, abatidos em um abatedouro frigorífico localizado em Uberlândia-MG.

2 REVISÃO LITERATURA

2.1 Importância econômica da avicultura

A avicultura caracteriza-se mundialmente pela produção intensiva e constante evolução e neste cenário o Brasil tem grande importância para o abastecimento do mercado nacional e internacional (WINCK et al., 2012). Considerando a avicultura mundial, os Estados Unidos se destaca como maior produtor de frango, seguido por Brasil e União Europeia. Dentre os maiores países importadores, destacam-se o Japão, seguido de Hong Kong e México. Entre os exportadores destaca-se o Brasil, que desde 2005 é líder mundial neste segmento, seguido por Estados Unidos e União Europeia (ABPA, 2018; WINCK et al., 2012).

A produção de carne de frango brasileira é a segunda maior produção do mundo, tendo produzido um total de 13,06 milhões de toneladas de carne de frango no ano de 2017 e destas, 67% são destinadas ao mercado interno, enquanto 33% para exportação (ABPA, 2018). Dentre os produtos exportados o volume total se divide em cortes (63%), frango inteiro (29%), salgados (3%), industrializados (3%) e embutidos (2%). Entre o período de 2006 e 2017, a variação do faturamento foi de US\$ 4.023 milhões, evidenciando o impacto da cadeia avícola no mercado mundial (ABPA, 2018). Além disso, movimenta a economia com cerca de 3,5 milhões de trabalhadores envolvidos direta e indiretamente na cadeia produtiva (ABPA, 2018).

A avicultura brasileira se concentra nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste do país (IBGE, 2018). O Sudeste é a segunda maior região produtora e abateu cerca de 17% da produção nacional em 2018 (ABPA, 2018). O estado de Minas Gerais representa 7% do abate inspecionado de aves, representando um total de 988 milhões de toneladas de frango (IBGE, 2018). A região do Triângulo Mineiro representa 22% do plantel do estado, sendo Uberlândia o município que se destaca como o maior criador, com 12% de participação nos índices do estado (PPM, 2017).

O Brasil também se destaca em relação ao consumo *per capita* de carne de frango mundial e, além dele, destacam-se também países como Estados Unidos, União Europeia e China (USDA, 2019). A média dos brasileiros em relação ao consumo de carne de frango no ano de 2017 foi de 42,07 Kg/pessoa e vem se mantendo constante nos últimos anos (ABPA, 2018). Esse consumo de carnes é correlacionado com a renda familiar, escolaridade, composição familiar, de modo que a carne de frango, quando analisada em

relação ao preço, dá a oportunidade de maior parte da população consumir um produto nutricionalmente adequado e economicamente acessível em relação às demais (AGUIAIS et al., 2015; TRAVASSOS et al., 2017).

As projeções do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) estimam um crescimento de 3,0% por ano na produção de carne de frango no período de 2017/18 até 2027/28, sendo essa a maior projeção de crescimento dentre as carnes. Desse modo, espera-se que no ano de 2028 a produção seja de 17,264 milhões de toneladas, representando um aumento de aproximadamente 29,1% em relação à década anterior. Além disso, espera-se a elevação do consumo de frango no Brasil em 2,6% por ano no mesmo período, atingindo 12,2 milhões de toneladas no ano de 2028 com o consumo *per capita* chegando a 56,7 kg. Para exportações espera-se ainda que a carne de frango no Brasil aumente cerca de 33,6%, totalizando 5,178 milhões de toneladas de carne de frango exportada no ano de 2028 (MAPA,2018).

Uma das razões para seu aumento é a capacidade que a produção de carne de frango possui de apresentar maior custo-benefício em relação ao tempo, área ocupada e o menor custo em relação as outras carnes (BELUSSO et al., 2010; TAVARES et al., 2007). A eficiência da cadeia está relacionada a diversos fatores, dentre eles destaca-se o melhoramento genético das aves, nutrição adequada, tecnologia dentro dos aviários, rigoroso controle sanitário e manejo adequado dos animais (MAPA, 2012; OLIVEIRA et al., 2012). Apesar da eficiência, essa cadeia produtiva é muito dinâmica e susceptível a inúmeras variações que afetam diretamente o lucro almejado, além de ser vulnerável a diversas condições sanitárias como alta densidade populacional, velocidade da produção, limpeza das instalações, vazios sanitários, entre outros (RODRIGUES et al., 2014).

Essa vulnerabilidade sanitária faz com que a carne de frango seja passível de contaminação, especialmente por microrganismos do gênero *Salmonella*. Essas bactérias se encontram alojadas no trato gastrointestinal dos animais e podem contaminar as carcaças no abatedouro caso não haja cuidado durante a evisceração (CARVALHO et al., 2005). Desse modo, a avaliação higiênico-sanitária e microbiológica dos lotes de animais é essencial, pois a contaminação dos produtos de origem animal afeta diretamente a inocuidade e qualidade dos mesmos, gerando impacto na saúde dos consumidores (WHO, 2018).

2.2 *Salmonella* spp e sua importância para a saúde pública

Toxinfecções de origem alimentar são ocasionadas por diversos microrganismos e são um grave problema de saúde pública (DAMASCENO et al., 2002). Esses patógenos se propagam nos alimentos devido à má conservação, manipulação, preparo e/ou acondicionamento (ANDRADE et al., 2010; JAY, 1992). Uma importante doença de origem alimentar é a salmonelose, causada por bactérias do gênero *Salmonella* spp (GERMANO, 2003; GUERIN et al., 2005), que por sua vez possuem distribuição mundial (MAIJALA et al., 2005; TESSARI et al., 2003). Esta bactéria possui grande importância para a saúde pública pois, qualquer pessoa pode ser susceptível, por estar presente em diversos alimentos e, por essa razão, destaca-se como uma das principais doenças de origem alimentar no Brasil e no mundo (MS, 2018; CDC, 2019).

Em âmbito nacional, em dado apresentado pelo Ministério da Saúde, têm-se que entre 2009 e 2018, houve notificação de 6.903 surtos de doenças de origem alimentar, deixando cerca de 120 mil pessoas doentes e levando 99 pessoas a óbito (MS, 2018). Dentre os 10 agentes etiológicos mais encontrados 7 são bactérias, sendo *Salmonella* spp a de segunda maior importância (MS, 2018). No entanto, é provável que esse número seja bem maior, pois a falta de diagnóstico de doenças gastroentéricas é uma realidade e muitas vezes não compõem as estatísticas nacionais de doenças oriundas da ingestão de alimentos (SANTOS et al., 2002; FORSYTHE, 2002; GERMANO, 2003). Na esfera internacional, o CDC (*Center for Disease Control and Prevention*) contabiliza anualmente cerca de 1,2 milhão de casos de salmonelose, 23.000 internações e 450 óbitos nos Estados Unidos (CDC, 2019). Já no continente europeu, apesar de estar havendo uma queda do número surtos, ainda é considerada uma das bactérias mais envolvida em surtos alimentares, acometendo cerca de 90 mil pessoas em 2017 (EFSA, 2019).

A salmonelose é uma doença gastrointestinal autolimitante, apresentando cólicas abdominais, vômitos, febre e diarreia (FAI et al., 2011). A porta de entrada no hospedeiro é a via fecal-oral, invadindo a mucosa intestinal e causando uma inflamação severa. Além disso, pode evoluir para um quadro de diarreia não sanguinolenta na maior parte dos casos (SCHWARTZ et al., 2000). Ao se aderir na mucosa intestinal, a bactéria *Salmonella* possui ainda a capacidade de multiplicação em células mononucleadas, permitindo maior permanência e disseminação no corpo do hospedeiro (SHINOHARA et al., 2008; PINTO et al., 2004).

Salmonella spp. são enterobactérias gram-negativas de conformação bacilar não esporulada, com diâmetro em torno de 0,7-1,5µm X 2,0-2,5µm. É uma bactéria anaeróbia facultativa e nas provas bioquímicas se caracterizam por serem catalase positiva e oxidase negativa. Além disso, formam colônias com cerca de 2 a 4 mm de diâmetro e crescimento adequado na temperatura de 37°C (CARDOSO, 2008). A doença causada por esta bactéria varia sua manifestação de acordo com o sorovar, concentração do inóculo, expressão de fatores de virulência e estado do hospedeiro (OHL et al., 2001). Em relação ao hospedeiro, para que fique doente, é essencial que ele esteja vulnerável a ponto de fornecer condições para que a bactéria se estabeleça, multiplique e expresse sua patogenicidade (OCHOA et al., 2005).

O gênero *Salmonella* pode ser encontrado disseminado no ambiente e em vários alimentos (RABSCH et al., 2002; FLOWERES, 1988). No entanto, variam o lugar onde habitam principalmente em relação ao hospedeiro. Dessa forma, são divididas em bactérias adaptadas ao ser humano (*S. Typhi*, *S. Paratyphi*), aos animais (*S. Dublin* – bovinos; *S. Choleraesuis* – suínos; *S. Pullorum*, *S. Gallinarum* – galinhas) e aos homens e animais (*S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*) (MS, 2011). Entre os sorotipos encontrados de maior importância para a saúde pública destacam-se : *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* e *S. Newport* (HAVELAAR et al., 2015).

Dentre os antígenos identificáveis no gênero da bactéria, destacam-se o “O” (somáticos), “H” (flagelares) e “Vi” (capsulares). A importância destes se dá pela possibilidade de diferenciação do patógeno e mecanismo de infecção (FERREIRA et al., 2008). Desse modo, as diferentes cepas também são identificáveis pelo seu DNA, genes de virulência ou resistência a compostos químicos (YANG et al., 2005).

A água contaminada é extremamente importante no ciclo de contaminação de frutas e hortaliças. Já os alimentos de origem animal, se contaminam de forma direta ou indireta durante a produção, processamento, armazenamento e manipulação (MS, 2011). No caso das aves, a colonização pela bactéria pode ocorrer logo no início da vida do animal, fazendo com que se tornem importante fonte de contaminação para o produto final (ANDRADE et al., 2007).

Estudos recentes avaliam a presença desse patógeno em diversos momentos dentro da cadeia de produção. O microrganismo é encontrado em cloaca de animais vivos e carcaças de animais abatidos em diversos abatedouros (BAPTISTA, 2018), na cama de aviários (DASILVA et al, 2018) em diferentes sistemas de lavagem de carcaças (ISOLAN et al, 2019), na carne já dentro dos estabelecimentos comerciais

(MONTEZANI et al, 2017; JAPON GUEVARA, 2019) e em produtos embutidos (PEREIRA et al, 2019). Desse modo, é evidente a importância de um monitoramento eficaz de *Salmonella* spp., sendo necessário para de garantir inocuidade do produto final e garantir a relevância do Brasil no mercado de alimentos mundial como um fornecedor de produtos de qualidade (SHINOHARA et al.,2008).

2.3 Genes de virulência em *Salmonella* spp

As infecções por *Salmonella* spp. são determinadas pelo hospedeiro e o perfil da bactéria, sendo essa influenciada pelos fatores de virulência (VIEIRA,2009), e a inclusão ou deleção de qualquer gene pode resultar em alterações na virulência (DEOLIVEIRA et al., 2013). Os genes de virulência encontram-se na forma cromossômica ou plasmidial (VAN ASTEN et al., 2005) e são identificados agindo em diferentes momentos da infecção (SUZUKI, 1994), sendo que a maioria deles estão localizados em regiões denominadas ilhas de patogenicidade (IP) (FERREIRA et al., 2008; SCHMIDT et al.,2004).

Acredita-se que durante a evolução dos microrganismos, trocas de material genético entre as bactérias, deleções e inserções em genes, tornaram alguns microrganismos mais patogênicos que outros (BERCHIERIJÚNIOR et al., 2009). As Ips da *Salmonella* spp. contém vários genes, tendo maior destaque os de adesão (adesinas, *lpf*, *sefA*), invasão (*Inv*, *agf*), inibição de respostas do hospedeiro (*pagC*, *spvC*) e resistência a antibióticos (*strA*, *strB*)(ELEMFAREJI et al.,2013; VIEIRA, 2009).

Dentre as regiões codificadoras da *Salmonella* spp, encontra-se o gene *agf* (fimbria agregativa), responsável por aderir e invadir células, formar matriz extracelular, auxiliar na agregação do microrganismo e, conseqüentemente, aumento de sua sobrevivência em ambientes hostis (GIBSON et al., 2007). Já o gene *lpf* (fimbria polar longa) é associado à fixação em células M, existentes nas placas de Peyer, contribuindo dessa forma, para o aumento da patogenicidade da bactéria(BAÜMLER et al.,1996a; OCHOA et al.,2005). O gene *ompC* é responsável pela codificação da proteína de membrana externa C da bactéria (JAWAD et al, 2016) e é um dos genes mais utilizados para caracterizar e identificar o perfil deste micro-organismo, pois é expressado mesmo quando *Salmonella* está nos diferentes ambientes, seja com alta ou baixa osmolariadade (ALMEIDA et al., 2014; PUENTE et al,1995).

No operon *invABCD*, localiza-se o gene *invA*, responsável por codificar a proteína *InvA* na membrana interna da bactéria, e é encontrado nos sorotipos mais conhecidos, sendo um padrão internacional de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) eficaz para a identificação rápida e sugestiva deste gênero (RAHN et al., 1992; WHANG et al., 2009 ; WILKINS et al., 2010). Esta proteína codificada tem a função de invadir as células epiteliais do hospedeiro (TORPDAHLet al.,2005;OLIVEIRA et al.,2003;SALEHI et al.,2005; GALÁN et al.,1992, PORTER et al.,1997).

As bactérias do gênero *Salmonella* também podem ter em seu código genético o gene *sefA*, capaz de induzir a manifestação de apêndices chamados fímbrias ou “pilli”, estruturas proteicas na superfície da bactéria que auxiliam na fixação desta nos tecidos do hospedeiro, auxiliando na patogenicidade (TORTORA et al., 2000). Além disso, esse gene também está relacionado à adesão do patógeno de forma importante a nível das placas de Peyer no intestino (LIUetal.,2011). Já o operon *spv* tem importância na disseminação sistêmica da doença (DERAKHSHANDEH et al.,2013), sendo o gene *spvC*, gene plasmideal que pode expressar formas adaptativas da *Salmonella* para sobrevivência e multiplicação nas células do hospedeiro (HUR et al., 2011; PAL et al.,2017).

A expressão do gene *sopB* faz com que a bactéria atue causando um desequilíbrio eletrolítico no trato gastrointestinal, alterando a fluidez de membranas e, conseqüentemente, ocasionando diarreia (LAN et al.,2018). Há também o gene *cdtB*, responsável por causar lisa da célula hospedeira e, desse modo, lesão do tecido alvo (MEZAL et al.,2014). E por fim, o gene *pagC*, que quando expresso está relacionado a adesão bacteriana nos tecidos e aumento de sobrevivência da bactéria em macrófagos (HEFFERNAN et al., 1992).

Desse modo, diversos genes podem influenciar na patogenicidade da bactéria e contribuir para a severidade e ocorrência da doença. (VIEIRA, 2009). A pesquisa destes é válida com o intuito de avaliar o risco envolvido quando produtos contaminados pelo microrganismo são consumidos (OLIVEIRA et al., 2016).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Caracterização do local de coleta

O projeto foi realizado em um abatedouro frigorífico de aves localizado no município de Uberlândia fiscalizado pelo Serviço de Inspeção Municipal (SIM). Neste estabelecimento são abatidas 1200 aves por dia de abate. O abate ocorre em média duas vezes por semana e as carcaças são comercializadas inteiras ou em cortes. Foram realizadas 20 coletas entre os meses de janeiro a outubro de 2018.

3.2 Caracterização da coleta de amostras

Os isolados de *Salmonella* spp utilizados no presente estudo foram originados de pesquisa prévia que analisou 90 carcaças de frango em dois pontos do abate: após a sangria e antes da escaldagem (Ponto A) e na saída do tanque de pré-resfriamento (Ponto B)(GARCIA,2019). Para identificação das carcaças, era colocado um lacre metálico de segurança numerado acima da articulação femorotibial, que era retirado somente ao final da coleta do ponto B.

Garcia (2019) obteve as amostras por enxágue superficial da carcaça com 500 ml de salina (0,85%) esterilizada (CASON et al., 2006, adaptado). O enxágue era realizado com o animal na própria linha de abate sendo necessário apenas colocá-lo dentro de um saco plástico que continha a solução salina e em seguida o conjunto era massageado (carcaça e salina) por 60segundos.

Após a coleta, as amostras permaneceram resfriadas em caixa de isopor com gelo até a chegada ao Laboratório de Inspeção e Tecnologia de Produtos de Origem Animal da FAMEV-UFU, onde foram analisadas quanto a presença de *Salmonella* spp e, posteriormente, avaliada a presença dos genes de virulência.

3.3 Identificação de *Salmonella* spp e pesquisa por genes de virulência

Após as etapas de isolamento convencional para *Salmonella* spp (ISO, 2002) e confirmação por PCR (FALCÃO et al., 2006),10 cepas de *Salmonella* spp foram identificadas e selecionadas para avaliação nesta pesquisa. Estas cepas foram então enviadas para sorologia no Laboratório de Enterobactérias da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) localizado no Rio de Janeiro.

Os genes foram identificados pela técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) tendo como alvo os genes *lpfA*, *invA*, *sefA* e *agfA* (Tabela 1), responsáveis pela patogenicidade da *Salmonella*. A PCR para detecção de genes de virulência foi feita no Laboratório de Biotecnologia Animal Aplicada da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia e, para sua realização, colônias suspeitas isoladas na etapa anterior, serão submetidas a extração e purificação de DNA, utilizando o Kit de purificação Wizard Genomic DNA (Promega Corp., Madison, WI)..

Para a realização das análises da reação em cadeia da polimerase (PCR) para pesquisa de genes de virulência foi utilizado como controle positivo a cepa de *S. Enteritidis* ATCC 13076 e negativo água ultra pura. As reações de PCR foram feitas com um volume final de 25µL, composto por 1 µL de DNA, 1,25 µL de 10 pmol/ µL da sequência forward e reverse de cada primer, 10,25 µL de água ultrapura, 12,5 µL de Taq Green. As amostras foram submetidas aos seguintes ciclos de amplificação: desnaturadas inicialmente a 94°C por 5 minutos, amplificadas em 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 45 segundos, anelamento a 58°C por 30 segundos (*invA*); 50°C por 30 segundos (*sefA* e *lpfA*); 66°C por 30 segundos (*agfA*); extensão por 72°C por 90 segundos, com extensão final a 72°C por 10 minutos.

Tabela 1. Sequência de genes de virulência, primers, peso molecular e referência bibliográfica.

GENE	PRIMERS	PESOMOLECULAR	REFERÊNCIA
<i>invA</i>	F:5'GTGAAATTATCGCCACGTTCTGGGCAA3' R:5'TCATCGCACCGTCAAAGGAACC3'	284 pb	Oliveira et al. (2003)
<i>sefA</i>	F:5'GATACTGCTGAACGTAGAAGG3' R:5'GCGTAAATCAGGATCTGCAGTAGC3'	488 pb	Oliveira et al. (2003)
<i>agfA</i>	F:5'TCCACAATGGGCGGCGGCG3' R:5'CCTGACGCACCATTACGCTG3'	350 pb	Collinson et al. (1993)
<i>lpfA</i>	F:5'CTTTCGCTGCTGAATCTGGT3' R:5'CAGTGTTAACAGAAACCAGT3'	250 pb	Heuzenroeder et al. (2000)

F: forward; R: reverse; pb: pares de base.

3.4 Análise de dados

Os resultados foram dispostos em tabela e avaliados através de análise descritiva dos perfis de genes de virulência encontrados entre os isolados previamente confirmados.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os 10 isolados no presente estudo foram confirmados como *Salmonella enterica* sorotipo Newport. Devido à sua adaptação a diversos ambientes, esse sorovar é um desafio mundial (ZHENG et al, 2017) e está entre os três mais prevalentes em infecções de origem alimentar por *Salmonella* spp. (SHARIAT et al, 2013). É encontrado em diversos tipos de produtos e é associado a surtos alimentares ligados ao consumo de carne bovina (MARSHALL et al, 2018), pepinos (ANGELO et al, 2015), aves, répteis, frutos do mar e água (PAN et al, 2019), evidenciando a importância deste para a saúde pública.

Os isolados foram então avaliados quanto à presença dos genes de virulência *invA*, *agfA*, *sefA* e *lpfA* e os resultados estão apresentados na tabela 2.

Tabela 2. Perfil de virulência de bactérias do gênero *Salmonella* spp isoladas de carcaças de frango abatidos em Uberlândia-MG

Coleta	Isolado	Animal	Etapa*	Genes de Virulência			
				<i>invA</i>	<i>agfA</i>	<i>sefA</i>	<i>lpfA</i>
3	S1	1	B	+	-	-	-
3	S2	1	B	-	-	-	-
4	S3	2	B	+	-	-	-
4	S4	3	B	-	-	-	-
4	S5	4	B	-	-	-	-
6	S6	5	A	-	-	-	-
6	S7	5	B	+	-	-	-
6	S8	6	B	-	-	-	-
6	S9	7	A	-	-	-	-
6	S10	8	B	-	-	-	-

*Etapa A: Após a sangria e antes da escaldagem; Etapa B: saída do tanque de pré-resfriamento

Nota-se que a pesquisa de genes de virulência evidencia que todos os isolados encontrados não apresentam os genes *agfA*, *sefA* e *lpfA*, que contribuiriam para o aumento da patogenicidade do microrganismo (GIBSON et al.,2007;OCHOA et al.,2005; LIU et al.,2011). Quanto ao gene *invA*, dos dez isolados, três apresentaram esse gene, que é responsável por fazer com que o patógeno tenha capacidade de invadir as células do hospedeiro (PORTER et al.,1997).

O padrão de virulência de isolados de *Salmonella* spp se apresentam de diversas formas em diferentes pesquisas, pois sofrem influência de diversas variáveis, como geografia local, higiene das estruturas de produção e abate, condição imunológica dos animais, possibilidade de ocorrência de contaminação cruzada dentro da linha de abate, dentre outros (MENDONÇA et al., 2016). Ao existir em mesmo ambiente bactérias com potencial patogênico e outras não, há um risco de troca de material genético, que pode conferir grau de virulência para as bactérias que não apresentam esse perfil (DE OLIVEIRA et al.,2013).

Os trabalhos de Costa et al. (2017), Rocha et al. (2014), Moura et al. (2014), Oliveira et al. (2016) e Elkenany et al. (2019), tiveram como resultado o gene *invA* amplificado em 7, 75, 86, 59 e 120 amostras, respectivamente, 100% dos isolados de *Salmonella* spp encontrados nestes estudos. Já no presente trabalho, foi observada a presença deste gene em apenas 30% das amostras, evidenciando que a maioria das *Salmonella* spp. encontradas na pesquisa possuem baixa patogenicidade, pois a ausência deste gene faz com que a bactéria perca sua capacidade de invasão celular (GÁLÁN et al,1992).

Alguns trabalhos apresentam uma variação de prevalência de 96 a 100% do gene *agfA*, 5,6 a 100% do gene *sefA* e 97,2 a 99% do gene *lpfA*(MARQUEZINI, 2015; MENDONÇA et al, 2016). São genes de adesão e fixação nas células do hospedeiro e são importantes para a formação inicial de biofilmes (MARQUEZINI, 2015). No entanto, o gene *agfA* não foi encontrado em nenhum dos isolados deste estudo, assim como os genes *sefA* e *lpfA*. Diante disso, compreende-se que apesar da ausência destes genes nos isolados avaliados no presente estudo, há o risco de aquisição destes através por meio de trocas de material genético entre os microrganismos ao longo da cadeia produtiva(MERINO et al., 2017).

Além disso, há também a preocupação com a possibilidade de contaminação cruzada ou a existência de mais de uma fonte de contaminação dentro da linha de abate. Essas possibilidades podem explicar o resultado observado no animal 5 (tabela 2), em

que se identificou a presença de *Salmonella* sem os genes de virulência no ponto A, e com o gene *invA* no ponto B. Este resultado pode indicar algum tipo de contaminação cruzada dentro do abatedouro-frigorífico que durante o processo de abate conseguiu eliminar o patógeno identificado na etapa A, porém, permitiu a contaminação da carcaça com outra cepa. Outra possibilidade é a de que a ave ainda não tinha o patógeno aderido à superfície na ocasião do enxágue.

Já no animal 1 (tabela 2) foram identificados dois isolados de *Salmonella* spp com perfis de virulência diferentes, podendo indicar neste caso que o animal chegou ao estabelecimento com mais de uma variedade de cepa ou uma possível contaminação cruzada durante a passagem da carcaça pelo tanque pré-resfriamento. Estas possibilidades levantadas demandam análises complementares para serem confirmadas, porém, evidenciam a complexidade das possíveis rotas de contaminação em um estabelecimento de abate (PORWOLLIK et al, 2003).

No estudo de Tarabees et al (2017), assim como no presente estudo, apesar de uma baixa prevalência de *Salmonella* spp (5%), há a confirmação da presença deste patógeno na linha de processamento e a existência de um ambiente favorável para sua proliferação e permanência. Desse modo, pode-se inferir que alimentos contaminados implicam em uma piora da qualidade do produto de forma geral, e representam um potencial risco para a saúde do consumidor.

5 CONCLUSÃO

Apesar da detecção de apenas um gene de virulência associado aos isolados de *Salmonella* analisados, o sorotipo identificado é de grande importância para a saúde pública e amplamente encontrado em infecções alimentares. O presente trabalho reforça que é essencial a implantação e aperfeiçoamento de programas de autocontrole e higiene operacional desde a granja até o abatedouro, com o intuito de reduzir a presença de patógenos, produzir um alimento inócuo e preservar a saúde do consumidor.

REFERÊNCIAS

- ABNT. **Associação Brasileira de Normas Técnicas**. ABNT NBR 16389. Avicultura - Produção, abate, processamento e identificação do frango caipira, colonial ou capoeira. P. 9. 2015.
- ABPA. **Associação Brasileira de Proteína Animal**. Relatório Anual 2018. Disponível em:<http://abpa-br.com.br/storage/files/relatorio-anual-2018.pdf>
- ABPA. **Associação Brasileira de Proteína Animal**. Resumo do setor. 2018. Disponível em:<http://abpa-br.com.br/setores/avicultura/resumo>
- AGUIAIS, Edilson Gonçalves; FIGUEIREDO, Reginaldo Santana. Correlação entre consumo de carne de frango e renda no Brasil (2002-2009). **Qualia: a ciência em movimento**, 1.1: 64-77, 2015.
- ALMEIDA, F., PITONDO-SILVA, A., OLIVEIRA, M.A., FALCÃO, J.P. Molecular epidemiology and virulence markers of *Salmonella Infantis* isolated over 25 years in São Paulo State, Brazil. **Infection, Genetics and Evolution**, v.19, p.145-151,2014.
- ANDRADE, M. A.; MESQUITA, A. J.; STRINGHINI, J. H., CHAVES, L. S.; MATTOS, M. S.; OLIVEIRA, A. S. C.; MORAES, D. M. C. Excreção fecal de *Salmonella* Enteridis em duas linhagens de frangos de corte. **Ciência Animal Brasileira**, v. 8, n. 4, p. 757-765, 2007
- ANDRADE, R. B., Gemelli, T., Dall Onder, L. P., Cristina, K., Brito, T., Barboza, A. A. L., & Brito, B. G.. Métodos diagnósticos para os patógenos alimentares: *Campylobacter* sp., *Salmonella* sp. e *Listeria monocytogenes*. **Arquivos do Instituto Biológico**,77(4), 741-750(2010).
- ANGELO, K. M., Chu, A., Anand, M., Nguyen, T. A., Bottichio, L., Wise, M., ... & Lance, S. . Outbreak of *Salmonella* Newport infections linked to cucumbers—United States, 2014. **MMWR. Morbidity and mortality weekly report**,64(6), 144(2015).
- BAPTISTA, D. Q., Santos, A. F., Aquino, M. H. C., Abreu, D. L., Rodrigues, D. P., Nascimento, E. R., & Pereira, V. L. . Prevalência e susceptibilidade antimicrobiana de sorotipos de *Salmonella* spp. isolados de frangos vivos e carcaças no estado do Rio de Janeiro(2018).
- BAÜMLER, A. J.; TSOLIS, R. M.;BOWE,F. A.; KUSTERS, J. G.; HOFFMANN, S.;HEFFRON,F. The *peff* fimbrial operon of *Salmonella typhimurium* mediates adhesion to murine small intestine and is necessary for fluid accumulation in the infant mouse. **Infection and Immunity** [online], v.64, n.1, p.61–68, 1996b. Disponível em:<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC173728/pdf/640061.pdf>
- BELUSSO, D.; HESPANHOL, A. N. A evolução da avicultura brasileira e seus efeitos territoriais. **Revista Percurso**, v.2, n.1, p.25-51, 2010.
- BERCHIERI JÚNIOR, A.; FREITAS NETO, O. C Salmoneloses. In: BERCHIERI JÚNIOR,A.etal (Ed.).**Doenças das aves** Campinas:Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, p. 435-454.2ed.,2009..

CARDOSO, A. L. S. P.; TERSSARI, E. N. C. Salmonella na Segurança dos Alimentos. **Biológico**, São Paulo, v. 70, n. 1, p. 11-13, jan./jun., 2008.

CARVALHO, Angela Cleusa de Fátima Banzatto, and Ana Lígia Lordello Cortez. "Salmonella spp. em carcaças, carne mecanicamente separada, lingüiças e cortes comerciais de frango." **Ciência Rural** 35.6 : 1465-1468 (2005).

CASON, J.A.; BERRANG, M.E.; SMITH, D.P. Recovery of bacteria from broiler carcasses rinsed zero and twenty-four hours after immersion chilling. **Poultry Science**, v.85, p.333-336, 2006.

CDC. **Center for Disease Control**. Pathogens causing US foodborne illnesses, hospitalizations, and deaths 2019. Disponível em: <https://www.cdc.gov/salmonella/index.html>

CDC. **Center for Disease Control**. Salmonella and food 2019. Disponível em: <https://www.cdc.gov/features/salmonella-food/index.html>

COLLINSON, K.; DOIG, P.C.; DORAN, J.L.; CLOUTHIER, S.; TRUST, T.J.; KAY, W.W. Thin aggregative fimbriae mediate binding of *Salmonella Enteritidis* to fibronectin. **Journal of Bacteriology**, v.175, n.1, p.12-18,1993.

COSTA, Camila Silva de Carvalho. Isolamento e caracterização fenotípica e genotípica de Salmonella sp. em vísceras de frangos. 2017.

DASILVA, G. B. P., & Mikalowski, U. S. . Pesquisa de presença de Salmonella SP. **Revista Terra & Cultura: Cadernos de Ensino e Pesquisa**, 34.66, 2018.

DAMASCENO, K. S. F. D. S., Alves, M. A., Freire, I. M. G., Tôres, G. F., Ambrósio, C. L. B., & Guerra, N. B. Condições higiênico-sanitárias de "self-services" do entorno da UFPE e das saladas cruas por eles servidas. **Higiene. alimentar**, 16(102/103), 74-78. (2002).

DE OLIVEIRA, Aline Pedrosa , Sola, M., Costa, J., Menezes, N., & De Oliveira, J. Salmonella enterica: genes de virulência e ilhas de patogenicidade. **Enciclopédia biosfera-centro científico conhecer**, 9(16), 1947-72 (2013).

DERAKHSHANDEH, A., R. Firouzi, and R. Khoshbakht. 2013. Association of three plasmid-encoded spv genes among different Salmonella serotypes isolated from different origins. **Indian Journal Microbiology**, v.53, p.106– 110, 2013.

EFSA **European Food Safety Authority** Casos de Salmonella em humanos: avaliação dos atuais objetivos de redução da UE, 2019. Available at: <https://www.efsa.europa.eu/en/press/news/190218>

ELEMFAREJI OI, Thong KL. Comparative virulotyping of *Salmonella typhi* and *Salmonella enteritidis*. **Indian Journal Microbiology**, v.53, p.410–417, 2013.

ELKENANY, R., Elsayed, M. M., Zakaria, A. I., El-sayed, S. A. E. S., & Rizk, M. A. Antimicrobial resistance profiles and virulence genotyping of Salmonella enterica serovars recovered from broiler chickens and chicken carcasses in Egypt. **BMC veterinary research**, 15(1), 124. (2019).

FAI, A. E. C.; FIGUEIREDO, E. A. T.; VERDIN, S. E. F.; PINHEIRO, N. M. S.; BRAGA, A. R. C.; STAMFORD, T. L. M. *Salmonella* ssp. E *Listeria monocytogenes* em presunto suíno comercializado em supermercados de Fortaleza(CE,Brasil): fator de risco para a saúde pública. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 16, n. 2, p. 57-62, 2011.

FALCAO, J. P., Falcao, D. P., Pitondo-Silva, A., Malaspina, A. C., & Brocchi, M. Molecular typing and virulence markers of *Yersinia enterocolitica* strains from human, animal and food origins isolated between 1968 and 2000 in Brazil. **Journal of Medical Microbiology**, 55(11), 1539-1548. (2006).

FERREIRA, E. O.; CAMPOS, L. C. *Salmonella*. In: TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. (Ed.). **Microbiologia**. 5 ed. São Paulo: Atheneu, p. 329-338. 2008.

FLOWERES, F. L. *Salmonella*. **Food Technology**; v.n.p. 1988.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre: Artmed; 2002.
GALAN, J.E.; GINOCCHIO, C.; COSTEAS, P. Molecular and functional characterization of the *Salmonella* invasion gene *invA*: Homology of *InvA* to members of a new protein family. **Journal of Bacteriology** [online], v.174, n.13, p.4338-4349, 1992. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC206218/pdf/jbacter00079-0160.pdf>

GALAN, J.E.; GINOCCHIO, C.; COSTEAS, P. Molecular and functional characterization of the *Salmonella* invasion gene *invA*: Homology of *InvA* to members of a new protein family. **Journal of Bacteriology** [online], v.174, n.13, p.4338-4349, 1992. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC206218/pdf/jbacter00079-0160.pdf>

GARCIA, D. T.; INFLUÊNCIA DO SISTEMA DE CRIAÇÃO NA CONTAMINAÇÃO POR MICRORGANISMOS INDICADORES DE HIGIENE E PRESENÇA DE *Salmonella spp* EM CARCAÇAS DE FRANGO. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Uberlândia; 2019.

GERMANO, P.M.L.; GERMANO, I.S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. São Paulo: Varela; 2003.

GIBSON, D.L.; WHITE, A.P.; RAJOTTE, C.M.; KAY, W.W. AgfCand AgfE facilitate extracellular thin aggregative fimbriae synthesis in *Salmonella* Enteritidis. **Microbiology** [online], v.153, p.1131-1140, 2007. Disponível em: <http://mic.sgmjournals.org/content/153/4/1131.full.pdf+html>

GUERIN, P. J., VOLD, L. A. A., Viltsland P. Communicable disease control in a migrant seasonal workers population: a case study in Norway. **Eurosurveillance** 10(1-3):48-50, 2005.

HAVELAAR, A. H., Kirk, M. D., Torgerson, P. R., Gibb, H. J., Hald, T., Lake, R. J., Praet, N., Bellinger, D. C., de Silva, N. R., Gargouri, N., Speybroeck, N., Cawthorne, A., Mathers, C., Stein, C., Angulo, F. J., & Devleeschauwer, B. World Health Organization global estimates and regional comparisons of the burden of foodborne disease in 2010. **PLoS Medicine**, 12, e1001923. (2015).

HEFFERNAN, E. J., Harwood, J., Fierer, J., & Guiney, D. . The *Salmonella typhimurium* virulence plasmid complement resistance gene *rck* is homologous to a family of

virulence-related outer membrane protein genes, including pagC and ail. **Journal of Bacteriology**, 174(1), 84-91 (1992).

HEUZENROEDER M.W., MURRAY C.J. & DALCIN R.M. Molecular basis of benign colonization of Salmonella Sofia in chickens. **Rural Industries R&D Corporation** 1:106. 2000.

HUR, J., Kim, J. H., Park, J. H., Lee, Y. J., & Lee, J. H. . Molecular and virulence characteristics of multi-drug resistant Salmonella Enteritidis strains isolated from poultry. **The Veterinary Journal**, 189(3), 306-311(2011).

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Estatística da Produção Pecuária 2018. Disponível em: ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Fasciculo_Indicadores_IBGE/abate-leite-couro-ovos_201801caderno.pdf

ISO. ISO 6579 -Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection of Salmonella spp.. **International Organization for Standardization**, Geneva, Switzerland, p.27, 2002

ISOLAN, L.W., L. W., Perdoncini, G., Todeschini, B., Santos, L. R., Guahyba, A. S., Depner, R., & Nascimento, V. P. . Carcass washing system and Salmonella spp. control in poultry slaughterhouses. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 71(1), 252-258(2019).

JAPÓN GUEVARA, Mariuxi Elizabeth. *Aislamiento y serotipificación de salmonella encarcasas de pollo en percha en la ciudad de Quito*. 2019. Bachelor's Thesis. Quito: UCE.

JAWAD, Alaa Abdel-Kadhim; AL-CHARRAKH, Alaa Hani; TARISH, Hashim Raheem. Proteína de membrana externa C(ompC) como alvo para o diagnóstico de Salmonella spp. utilizando reação de cadeia de polimerase (PCR). **Al-Qadisiyah Journal of Veterinary Medicine Sciences**, 15.1:13-17, 2016 .

JAY, J. M. **Microbiología moderna de los alimentos**. 3a ed. Zaragoza: Acribia, 1992.

LAN TRAN TQ, MARIE-LOU GAUCHER, NGUYEN TM NHAN, ANN LETELLIER e SYLVAIN QUESSY. Distribution of Virulence Genes among Salmonella Serotypes Isolated from Pigs in Southern Vietnam. **Journal of Food Protection**, setembro de vol.81, n ° 9, pp. 1459-1466, 2018.

LIU, B., Zhang, L., Zhu, X., Shi, C., Chen, J., Liu, W., ... & Shi, X. . PCR identification of Salmonella serogroups based on specific targets obtained by comparative genomics. **International journal of food microbiology**, 144(3), 511-518 (2011).

MAIJALA, R.; RANTA, J.; SEUNA, E. The efficiency of the Finnish *Salmonella* Control Programme. **Food Control**; 16(8):669-675.2005.

MAPA – **MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO**. Brasil Projeções do Agronegócio 2011/12 a 2021/22. Brasília, 2012, 50 p. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>.

MAPA. **Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento**. Projeções do Agronegócio, Brasil 2016/18 a 2026/28, Projeções de Longo Prazo, 2018. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/assuntos/politica-agricola/todas-publicacoes-de-politica-agricola/projecoes-do-agronegocio/banner_site-03-03-1.png/view

MARSHALL, Katherine E. Heiman, et al. Surto prolongado de infecções por *Salmonella* Newport ligadas à carne moída: Possível papel das vacas leiteiras - 21 estados, 2016 – 2017. **Relatório semanal de morbidade e mortalidade**, 67.15:443, 2018.

MARQUEZINI, Míriam Gonçalves. Avaliação da capacidade de produção de biofilmes e detecção da enzima KPC em *Salmonella* spp. isoladas de aviário e linha de Abate de Aves. PhD Thesis. Universidade de São Paulo. 2015.

MENDONÇA, Eliane Pereira. Características de virulência, resistência e diversidade genética de sorovares de *Salmonella* com impacto na saúde pública, isolados de frangos de corte no Brasil. 2016.

MERINO, Lina et al. Formação de biofilme por *Salmonella* sp. na indústria avícola: estratégias de detecção, controle e erradicação. **Food Research International**, 2017.

MEZAL, Ezat H.; BAE, Dongryeoul; KHAN, Ashraf A. Detection and functionality of the CdtB, PltA, and PltB from *Salmonella enterica* serovar Javiana. **Pathogens and disease**, 72.2: 95-103, 2014.

MONTEZANI, E., Giuffrida, R., Pereira Andrade, R. A., & Silva, B. L. . ISOLAMENTO DE *SALMONELLA* spp E *STAPHYLOCOCCUS aureus* EM CARNE DE FRANGO E CONDIÇÕES DOS ESTABELECIMENTOS COMERCIAIS NO MUNICÍPIO DE TUPÃ-SP. In **Colloquium Vitae** (Vol. 9, No. 2) (2017, May).

MOURA, M. S., Oliveira, R. P., Melo, R. T., Mendonça, E. P., Fonseca, B. B., & Rossi, D. A. . Virulence genes and genetic diversity in *Salmonella* spp. isolated from samples of swine origin. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 66(5), 1367-1375 (2014).

MS. **Ministério da Saúde**. Manual Técnico de Diagnóstico Laboratorial da *Salmonella* spp. 2011. Disponível em: <http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2014/dezembro/15/manual-diagnostico-salmonella-spp-web.pdf>

MS. **Ministério da Saúde**. Surtos de doenças transmitidas por alimentos no Brasil 2018. Disponível em: <http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/maio/17/Apresentacao-Surtos-DTA-Maio-2019.pdf>

NAZARENO, A. C.; PANDORFI, H.; ALMEIDA, G. L. P.; GIONGO, P. R.; PEDROSA, E. R. M.; GUISELINI, C. Avaliação do conforto térmico e desempenho de frango de corte sob regime de criação diferenciado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 13, n.6, p.802-808, 2008.

OCHOA, I. M. F.; RODRIGUEZ, A.V. Mecanismos moleculares de patogenicidade *Salmonella* sp. **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

OHL, M.E.; MILLER, S.I. *Salmonella*: a model for bacterial pathogenesis. **Annual Review Medical** [online], v.52, p.259-274, 2001.

OLIVEIRA, Aline Pedrosa de .Suscetibilidade a antimicrobianos e genes de virulência em *Salmonella enterica* de origem avícola.2016

OLIVEIRA, D.R.M.S. & NÄÄS, I.A. Issues of sustainability on the Brazilian broiler meat production chain. In: **INTERNATIONAL CONFERENCE ADVANCES IN PRODUCTION MANAGEMENT SYSTEMS**, 2012, Rhodes. Anais...Competitive Manufacturing for Innovative Products and Services: proceedings, Greece: Internacional Federation for Information Processing, 2012.

OLIVEIRA, S. D. et al. Detection of virulence genes in *Salmonella* Enteritidis isolates from different sources. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 34, n. 1, p. 123-124, 2003.

PAL, Susmita et al. Caracterização de isolados de *Salmonella Gallinarum* de aves de criatório de quintal pela reação de polimerase em cadeia de detecção de genes de invasão (*invA*) e de virulência plasmidial de *Salmonella* (*spvC*).**Mundo veterinário**, 10.7: 814,2017 .

PAN, H., Zhou, X., Chai, W., Paudyal, N., Li, S., Zhou, X., ... & Rajkovic, A. . Diversified sources for human infections by *Salmonella enterica* serovar Newport. **Transboundary and emerging diseases**,66(2), 1044-1048(2019).

PEREIRA, Juliano Gonçalves; BARCELLOS, Vinicius Cunha; DOS SANTOS BERSOT, Luciano. DISSEMINAÇÃO DE SALMONELLA NO PROCESSAMENTO INDUSTRIAL EM PEQUENA ESCALA DE SALAME TRADICIONAL.**Archives of Veterinary Science**, 24.1,2019 .

PINTO, U.M.; CARDOSO, R.R.; VANETTI, M.C.D. Detecção de *Listeria*, *Salmonella* e *Klebsiella* em serviço de alimentação hospitalar. **Revista de Nutrição**, v. 17, n. 3, p. 319-326, 2004.

PORTER, S.B.; CURTISS, R. Effect of *inv* mutations on *Salmonella* virulence and colonization in 1-day-old White Leghorn chicks. **Aviária Diseases**[online], v.41, n.1, p.45-57, 1997. Disponível em: <http://www.jstor.org/discover/10.2307/1592442?uid=37506&uid=3737664&uid=2129&uid=5909624&uid=2&uid=70&uid=3&uid=37505&uid=67&uid=62&sid=21101181494547>

PORWOLLIK, Steffen; MCCLELLAND, Michael. Transferência lateral de genes em *Salmonella*.**Micróbios e infecção**, 5.11: 977-989, 2003.

PPM, **Pesquisa da Pecuária Municipal**; Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística; Efetivo dos rebanhos, tabela 2, 11 de 2017. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9107-producao-da-pecuaria-municipal.html?=&t=resultados>

PUENTE, José Luis, et al. O gene *ompC* de Salmonella: estrutura e uso como veículo para sequências heterólogas. **Gene**, 156.1: 1-9, 1995.

RABSCH, W.; ANDREWS, H.L.; KINGSLEY, R.A.; PRAGER, R.; TSCHÄPE, H.; ADAMS, L.G.; BÄULMER, A.J. *Salmonella enterica* serotype typhimurium and its host-adapted variants. **Infection and Immunity** v.70, n.5, p.2249-255, 2002.

RAHN, K., De Grandis, S. A., Clarke, R. C., McEwen, S. A., Galán, J. E., Ginocchio, C., et al. Amplification of an *invA* gene sequence of Salmonella Typhimurium by polymerase chain reaction as a specific method of detection of Salmonella. **Molecular and Cellular Probes**, 6, 271e279.(1992).

RICHETTI, A.; SANTOS, A. C. O sistema integrado de produção de frango de corte em Minas Gerais: uma análise sob a ótica da ECT. **Revista de Administração da UFLA**, v.2, n.2, p.34- 43, 2000.

ROCHA, D. C. D. C., Marinho, A. N. D. R., Reis, M. D. S. O. D., Borges, I. R., Ramos, F. L. D. P., & Loureiro, E. C. B. Perfil epidemiológico e caracterização molecular de Salmonella Typhi isoladas no Estado do Pará, Brasil. (2014).

RODRIGUES, Wesley Osvaldo Pradella et al. Evolução da avicultura de corte no Brasil. **Enciclopédia biosfera, Centro Científico Conhecer**, v. 10, p. 1666, 2014.

SALEHI, T. Z.; MAHZOUNIEH, M.; SAEEDZADEH, A. Detection of *invA* gene in isolated *Salmonella* from broilers by PCR method. **International Journal of Poultry Science**, v. 4, n. 8, p. 557-559, 2005.

SANTOS, L.R.; NASCIMENTO, V. P.; FLORES, M.L. *Salmonella enteritidis* isoladas de amostras clínicas de humanos e de alimentos envolvidos em episódios de toxinfecções alimentares, ocorridas entre 1995 e 1996, no estado do Rio Grande do Sul. **Higiene Alimentar**, v. 16, p. 93-99, 2002.

SANTOS, A. L.; SAKOMURA, N. K.; FREITAS, E. R.; FORTES, C. M. L. S.; CARRILHO, E. N. V. M.; FERNANDES, J. B. K. Estudo do crescimento, desempenho, rendimento de carcaça e qualidade de carne de três linhagens de frango de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.5, p.1589-1598, 2005

SAVINO, V. J. M.; COELHO, A. A. D.; ROSÁRIO, M. F.; SILVA, M. A. N. Avaliação de materiais genéticos visando à produção de frango caipira em diferentes sistemas de alimentação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.3, p.578-583, 2007.

SCHMIDT, H.; HENSEL, M. Pathogenicity islands in bacterial pathogenesis. **Clinical Microbiology Reviews**. [online], v.19, n.1, p.14-56, 2004. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC321463/pdf/0038.pdf>

SCHWARTZ, K. J. Salmonellosis in: STRAW, B.E.; D'ALLAIRES, S.; MENGELING, W.L.; TAYLOR, D.J. **Disease Swine**. Ames: Iowa University Press, 8th ed. 2000.

SHARIAT, N., Kirchner, MK, Sandt, CH, Árvores, E., Barrangou, R., & Dudley, EG. Subtipagem de isolados de surtos de Salmonella enterica serovar Newport por CRISPR-MVLST e determinação da relação entre os resultados CRISPR-MVLST e PFGE. **Journal of clinical microbiology**, 51(7), 2328-2336 (2013).

SHINOHARA, N. K. S.; BARROS, V. B.; JIMENEZ, S. M. C.; MACHADO, E. C. L.; DUTRA, R. A. F.; FILHO, J. L. L. *Salmonellaspp.*, importante agente patogênico veiculado em alimentos. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 8, n. 5, p. 1669-1674, 2008.

SILVA, M. A. N.; FILHO, P. H.; ROSÁRIO, M. F.; COELHO, A. A. D.; SAVINO, V. M. J.; GARCIA, A. A. F.; SILVA, I. J. O.; MENTEN, J. F. M. Influência do sistema de criação sobre o desempenho, a condição fisiológica e o comportamento para linhagens de frangos para corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.1, p.208-213, 2003.

SUZUKI, S. Patogenicity of Salmonella Enteritidis in poultry. **International Journal of Microbiology**, Holanda, v. 21, p.89-105, 1994.

TARABEES, Reda, et al. Isolamento e caracterização de Salmonella Enteritidis e Salmonella Typhimurium da carne de frango no Egito. **O Jornal de Infecção nos Países em Desenvolvimento**, 11.04: 314-319, 2017 .

TAVARES, L. P.; RIBEIRO, K. C. S. Desenvolvimento da Avicultura de Corte Brasileira e Perspectivas frente à Influenza Aviária. **Organizações Rurais & Agroindustriais**, v. 9, n. 1, p. 79-88, 2007.

TESSARI, E. N. C.; CARDOSO, A. L. S. P.; CASTRO, A. G. M. Prevalência de *Salmonella* Enteritidis em carcaças de frango industrialmente processadas. **Higiene Alimentar**; 17(107):52-55. 2003.

TORPDAHL, M., Skov, M. N., Sandvang, D., & Baggesen, D. L. Genotypic characterization of Salmonella by multilocus sequence typing, pulsed-field gel electrophoresis and amplified fragment length polymorphism. **Journal of Microbiological Methods**, 63, 173e184.(2005).

TORTORA, G. J; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. Porto Alegre, Artmed, 6 ed. p.83, 2000.

TRAVASSOS, Guilherme Fonseca; COELHO, Alexandre Bragança. Padrão de Substituição entre Carnes no Consumo Domiciliar do Brasil. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, 55.2: 285-304, 2017.

USDA. **United States Department of Agriculture**. USDA Livestock and poultry: Worldmarkets and trade 2019. Disponível em: https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/livestock_poultry.pdf

VAN ASTEN, A.J.A.M.; VAN DIJK, J.E. Distribution of "classic" virulence factors among *Salmonellaspp.* **Fems Immunology and Medical Microbiology**, v.44, n.3, 251-259, 2005.

VIEIRA M.A. Ilhas de patogenicidade. **O Mundo da Saúde**. 33(4):406-414, 2009. .

WHANG, Y.P.; LIA, L.; SHENA, J.Z.; YANG, F.J.; WU, Y.W. Quinolone-resistance in *Salmonellais* associated with decreased mRNA expression of virulence genes *invA* and *avrA*, growth and intracellular invasion and survival. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v.133, n.4, p.328-334, 2009.

WHO-WORLD HEALTH ORGANIZATION. Inocuidad de los alimentos 2017. Disponível em: <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. Salmonella (no tifoidea) 2018. Disponível em: [http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal))

WILKINS, W. et al. Comparison of Bacterial Culture and Real-Time PCR for the Detection of Salmonella in Grow-Finish Pigs in Western Canada Using a Bayesian Approach. **Zoonoses and public health**, v. 57, n. s1, p. 115-120, 2010.

WINCK, César Augustus; MACHADO, João Armando Dessimon. Avicultura brasileira: perspectivas para o mercado consumidor chinês. **RACE-Revista de Administração, Contabilidade e Economia**, v. 10, n. 2, p. 241-268, 2012.

YANG, J.; WINN Jr, W. C.; ALLEN, S.; JANDA, W.; KONEMAN, E.; PROCOP, G.; YANG, F.; ZHANG, X.; CHEN, L.; JIANG, Y.; YAN, Y.; TANG, X.; WANG, J.; XIONG, Z.; DONG, J.; XUE, Y.; ZHU, Y.; XU, X.; SUN, L.; CHEN, S.; NIE, H.; PENG, J.; XU, J.; WANG, Y.; YUAN, Z.; WEN, Y.; YAO, Z.; SHEN, Y.; QIANG, B.; HOU, Y.; YU, J.; JIN, Q. Genome dynamics and diversity of Shigella species, the etiologic agents of bacillary dysentery. **Nucleic Acids Research**, v. 33, n. 19, p. 6445-6458, 2005.

ZHENG, Jie, et al. Whole-genome comparative analysis of Salmonella enterica serovar Newport strains reveals lineage-specific divergence. **Genome biology and evolution**, 9.4: 1047-1050, 2017.