

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA**

ICARO MENDONÇA COSTA

**SELEÇÃO DE *Bacillus subtilis* INIBIDORES DE *Salmonella* spp. E
Campylobacter spp.**

**UBERLÂNDIA – MG
2022**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA**

ICARO MENDONÇA COSTA

**SELEÇÃO DE *Bacillus subtilis* INIBIDORES DE *Salmonella* spp. E
Campylobacter spp.**

Projeto de pesquisa apresentado à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial à aprovação na disciplina Trabalho de Conclusão de Curso I.
Orientadora: Profa. Dra. Belchiolina Beatriz Fonseca

UBERLÂNDIA

2022

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me abençoado até aqui. Por estar sempre ao meu lado, e protegendo junto aos anjos e santos. Agradeço a nossa senhora que me guiou em cada obstáculo, sempre me mostrando o melhor caminho

A minha mãe, Elaine, aos meus irmãos, Raphael e Isabella, e toda minha família que sempre me apoiaram, por ser minha inspiração, pelo amor e carinho, amo vocês; E ao meu pai mesmo não estando mais nesse mesmo plano sempre deixou um exemplo a ser seguido.

À minha Namorada Isadora por estar presente nos momentos em que minha família não pode estar, sempre me dando um apoiando incondicional, e me aconselhando quando eu mais precisei.

Aos meus irmãos de republica em especial Robson, Arthur, Pedro, Guilherme e Lucas por ter tornado essa jornada mais fácil sempre, me alegrando com uma boa conversa na sala de casa.

Aos meus companheiros do Grupo de Estudos de Ciências Avícolas (GECA), por me ensinarem tanto sobre Avicultura, em especial meu amigo Rogério que tanto me ensinou durante esses anos de graduação.

Ao laboratório LABIO e LADOC, que abriram suas portas pra mim, e onde tive o prazer de conhecer pessoas fantásticas que me ensinaram tanto.

À minha orientada Bia, que mesmo sem me conhecer direito me acolheu e deixou eu trabalhar ao seu lado. Obrigada pelos ensinamentos, pelo carinho e pela amizade que nasceu nesta nossa caminhada.

Aos meus queridos amigos, que tanto me ajudaram nesta caminhada. Agradeço a Deus todos os dias por ter colocado pessoas tão especiais na minha vida. Sempre me ajudando, nos momentos difíceis. Jamais me esquecerei de vocês.

Enfim, agradeço a todos que contribuíram de alguma forma nessa etapa da minha vida.

“Quando se sonha sozinho é apenas um sonho. Quando se sonha em conjunto é o começo de uma realidade”. Nada teria acontecido se eu não tivesse a presença de vocês ao meu lado sempre, muito obrigada de coração!

RESUMO

A *Salmonella* spp e a *Campylobacter* spp. se destacam por serem bactérias importantes em humanos no mundo todo sendo que a principal fonte de transmissão é a carne de frango. Devido à preocupação com a resistência aos antibióticos, formas alternativas de controle são intensivamente pesquisadas a fim de controlar estes patógenos durante o ciclo de vida das aves. Uma dessas alternativas viáveis são os probióticos a base de *Bacillus* spp. que atuam na prevenção e controle de *Salmonella* e *Campylobacter*. Este trabalho tem como objetivo caracterizar cepas de *Bacillus subtilis* (BS) a partir da capacidade de inibição *Salmonella* e *Campylobacter*. A seleção foi feita *in vitro*, tendo a sua eficácia analisada a partir da medida do halo de inibição formado ao redor do *spot* da cultura dos BS inativados. Foi observado que as cepas de BS apresentam efeito inibitório sobre os patógenos, mas a intensidade do efeito é isolado dependente. Todas as cepas de BS analisadas promoveram algum grau de inibição sobre os isolados, porém houve mais intenso efeitos inibitórios sobre os sorotipos de *Salmonella* Infantis (SI) e *Campylobacter jejuni* (CJ). E apesar das cepas de BS C, E e G apresentarem bons resultados, a cepa G demonstrou maior eficiência.

Palavras-chave: probiótico, carne de frango, indústria de alimentos.

ABSTRACT

Salmonella spp and *Campylobacter* spp. stand out as important pathogens in humans worldwide and the main source of transmission is poultry meat. Due to the concern with antibiotic resistance, alternative forms of control are intensively researched in order to control these pathogens during the life cycle of poultry. One of these viable alternatives are probiotics based on *Bacillus* spp. that act in the prevention and control of *Salmonella* and *Campylobacter*. This work aims to characterize *Bacillus subtilis* (BS) strains based on their ability to inhibit *Salmonella* and *Campylobacter*. The selection was made in vitro, having its effectiveness analyzed from the measurement of the halo of inhibition formed around the culture spot of the inactivated BS. It was observed that the BS strains show inhibitory effect on the pathogens, but the intensity of the effect is isolate dependent. All BS strains analyzed induced some degree of inhibition on the isolates, but there were better inhibitory effects on *Salmonella Infantis* (SI) and *Campylobacter jejuni* (CJ) serotypes. And although the BS strains C, E, and G showed good results, the G strain showed greater efficiency.

Keywords: probiotic, chicken meat, food industry.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	7
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	8
2.1.	Avicultura no Brasil	8
2.2.	O uso de Antibióticos na Avicultura	9
2.3.	Importância dos probióticos na Avicultura	10
3	MATERIAIS E METODOS.....	14
4	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	16
5	RESULTADOS	17
6	DISCUSSÃO	18
8	REFERÊNCIAS	19

1 INTRODUÇÃO

Um importante problema na avicultura contemporânea é a infecção das aves de produção por micro-organismos patogênicos, que resulta em contaminação das carcaças e perdas econômicas. Existem inúmeros agentes patogênicos que podem levar a essa contaminação, mas os mais frequentes são as bactérias dos gêneros *Salmonella* spp. e *Campylobacter* spp., contra as quais deve-se agir com cautela redobrada; estes são importantes agentes patogênicos veiculados em alimentos, principalmente na carne de frango (SILVA, 2017).

Por ser o segundo maior produtor e o primeiro exportador de carne de frango do mundo (ABPA, 2021), o Brasil deve buscar operar com rígidos cuidados sanitários em todas as etapas de produção. Do contrário corre o risco de sofrer significativas perdas por restrições colocadas por países importadores (SHINOHARA *et al.*, 2008).

Dentre as diversas bactérias patogênicas, *Salmonellas* são as que geram maior preocupação em todo o mundo, por serem causadoras de zoonoses, ou por possuírem alta morbidade em aves e serem de difícil controle. Muitos sorotipos são patogênicos ao homem e podem causar diferentes sintomas devido à variação na patogenicidade e na resposta imune do hospedeiro. Por esses motivos, é interessante trabalhar com medidas preventivas para controlar as salmoneloses, uma vez que estas podem causar grandes impactos econômicos, tanto por diminuir as exportações do frango, quanto para saúde pública, que precisará arcar com os custos dos tratamentos das pessoas infectadas (MACHADO *et al.*, 2016).

Além de manter o controle sobre as salmoneloses, também se faz necessário observar e controlar as bactérias do gênero *Campylobacter* que são patógenos encontrados com bastante frequência nos aviários, o que pode resultar na contaminação das carcaças (MELO *et al.*, 2013).

Nesse contexto, novas formas de prevenção e controle vêm sendo pesquisadas a fim de combater patógenos na produção avícola, já que a utilização de antibióticos na avicultura, além de não agradar países importadores, não apresentam efetividade esperada em virtude da grande habilidade de adaptação ao meio que as bactérias patogênicas apresentam (MENDONÇA; FONSECA e MONTEIRO, 2016).

Uma solução preventiva para o problema de infecção das aves de produção por *Salmonella* spp. e *Campylobacter* spp. é o uso de bactérias probióticas como

Bacillus spp. A maioria dos representantes deste gênero são consideradas inofensivas tanto a animais quanto a humanos e podem atuar no controle da multiplicação de bactérias patogênicas (GUERRIERI *et al.*, 2009; SPERANZA, SINIGAGLIA e CORBO, 2009).

O presente trabalho tem como objetivo avaliar *in vitro* a eficácia de metabólitos de cepas *Bacillus subtilis* (BS) em inibir o crescimento de bactérias patogênicas, incluindo, especialmente *Salmonella* Heidelberg (SH), *Salmonella* Enteritidis (SE), *S. Typhimurium* (ST), *S. Minnesota* (SM), *Salmonella* variante monofásica (SVM), *Salmonella* Infantis (SI) e *C. jejuni* (CJ).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Avicultura no Brasil

A avicultura se tornou uma importante atividade econômica no Brasil há muitos anos, sendo aperfeiçoada com a chegada de imigrantes e ganhando impulso durante a Segunda Guerra Mundial, quando houve considerável aumento do consumo da carne de frango internamente (COSTA, 2011). Já no fim da década de 1950, vários avicultores, que até então se dedicavam apenas à produção de ovos para consumo, começaram a mudar de orientação; nessa época, o frango já atingia o máximo de peso comercial em menor tempo e com o mínimo de alimentação (ESPÍNDOLA, 2012; SANTOS, 2014).

A avicultura, no entanto, se estabeleceu realmente como atividade comercial apenas na década de 1960, quando surgiu o sistema de produção integrado, que criou uma parceria entre a indústria e os produtores (COSTA, 2011). Atualmente, a avicultura no Brasil tem grande importância, com a carne de frango sendo a mais consumida no país, em uma quantidade de aproximadamente 43kg por habitante por ano segundo a Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA, 2021). O Brasil também é o maior exportador de carne de frango do mundo, exportando 4.214 milhões de toneladas por ano em cinco modos diferentes: frangos inteiros, cortes, embutidos, industrializados e salgados. Os números mais expressivos dizem respeito aos frangos inteiros e os cortes, que juntos somam cerca de 93% do total exportado (ABPA, 2020).

O Brasil exporta carne de frango para todos os continentes, tendo como principal comprador o continente asiático, em maior quantidade para a China e o

Oriente Médio; além da Ásia, há também a África e a União Europeia como segundo e terceiro maiores compradores de carne avícola, respectivamente. Essa exportação gerou de lucro aproximadamente 7 bilhões de dólares para o Brasil no ano de 2019 (ABPA, 2020).

Além de toda essa rentabilidade que a Avicultura gera para o Brasil, ela ainda abastece o mercado interno. Uma pesquisa realizada pelo Centro de Assessoria e Pesquisa de Mercado (CEAP) com famílias de todo o país, mostrou que em 100% dos lares entrevistados há o consumo de carne de frango, sendo que a maioria a consome de 2 a 3 vezes por semana (COSTA, 2011). Embora este não tenha sido o principal motivo apontado pelas famílias para justificar o grande consumo da carne de frango, esse alimento, juntamente com ovos, são as fontes de proteína animal mais baratas presentes no mercado (RECK e SCHULTZ, 2016). Todos os dados apontam para a grande importância socioeconômica representada pelas atividades do setor avícola para a população brasileira, principalmente. Assim sendo, pode-se perceber quão imprescindíveis são os cuidados com a sanidade e segurança alimentar durante a cadeia de produção (TALAMINI *et al.*, 2018).

2.2. O uso de Antibióticos na Avicultura

A indústria avícola foi a que mais conseguiu progresso em termos zootécnicos dentro de todas as cadeias de produção animal, conseguindo aumentar a produção em larga escala em um curto espaço de tempo com um baixo custo (KIRCHHELLE, 2018). Para esse desenvolvimento acontecer, foi necessário grande investimento nas áreas de Melhoramento Genético e Nutrição, além do uso de antibióticos como promotores de crescimento, adicionado ao seu uso terapêutico (BARROS, 2012; CORRÊA *et al.*, 2003; KIRCHHELLE, 2020).

Como consequência do uso em larga escala dos antibióticos promotores de crescimento, observou-se o surgimento de resistência de diversas bactérias a esses agentes antimicrobianos; várias delas, inclusive, adquiriram multirresistência, ou seja, resistência a mais de um antibiótico simultaneamente (GARCIA-MIGURA *et al.*, 2014). A forma de utilização desses fármacos sofreu grande pressão do mercado externo, pois estes eram administrados por via oral, em doses subterapêuticas e por um período inapropriado (HAWKEY, 2008).

O uso indiscriminado dessas substâncias acarretou em uma seleção de bactérias resistentes geneticamente, seja por alteração genética ou pela aquisição

desses genes, deixando a situação um pouco mais preocupante. Essa resistência ocorre não apenas para as aves, mas também é possível que ocorra para as pessoas que entram em contato com os produtos provenientes dos animais tratados com esses fármacos. Surge, então, uma situação de resistência cruzada: antibióticos usados para tratar infecções humanas podem perder sua eficácia (CHANTZIARAS *et al.*, 2014; STANTON, 2013).

Pelos motivos antes citados, o uso dos antibióticos como melhoradores de desempenho levou à preocupação com a seleção de bactérias patogênicas que se tornassem resistentes aos antibióticos usados na terapia humana. Assim, em 2006, diversas moléculas antibióticas tiveram seu uso proibido na União Europeia (EUROPEAN UNION LEX, 2003).

Com a proibição do uso de certos antibióticos, os mercados exportadores tiveram de se adaptar à legislação da União Europeia para continuar exportando para estes países. O Brasil, sendo o maior exportador de carne de frango do mundo (ABPA, 2020) e tendo a União Europeia como importante importador naquele momento, também teve de se adaptar a essas medidas (CASTANO, 2007).

Tendo em vista a necessidade da melhoria da produção, juntamente com a preocupação com quadros de infecção causados por bactérias patogênicas, especialmente as do gênero *Salmonella* spp., houve a intensificação na busca de produtos alternativos capazes de proporcionar melhor desempenho para os animais, diminuir a infecção das aves e contaminação das carcaças por bactérias patogênicas, sem deixar resíduos que pudessem causar problemas de saúde aos consumidores finais da carne de frango. Assim, foi necessária a pesquisa de novas substâncias melhoradores de desempenho, alternativos ao uso de antibióticos, entre eles, extratos de plantas, óleos, ácidos orgânicos, prebióticos, probióticos e suas associações (HUYGHEBAERT *et al.*, 2011).

2.3. Importância dos probióticos na Avicultura

Os probióticos podem ser definidos como espécies colonizadoras ou não colonizadoras da microbiota intestinal, tendo-se os *Lactobacillus* sp. como exemplo de bactérias colonizadoras e os *Bacillus* spp. como não colonizadoras (HUYGHEBAERT *et al.*, 2011).

Hoje já se sabe que os probióticos atuam de diversas formas no trato digestório dos animais. Os probióticos podem atuar competindo com outras bactérias patogênicas, como por exemplo, *Salmonella* e *Campylobacter*, também podem produzir substâncias e enzimas que agem de forma antibacteriana. Atuam também estimulando o sistema imune, ou de forma nutricional, facilitando na digestão e absorção de nutrientes (ADHIKARI & KIM, 2017).

Na produção animal, o uso de probióticos tem a função de otimizar o desempenho zootécnico, obtendo melhores resultados com baixos custos. A melhora de desempenho zootécnico pode estar associada à redução da contaminação por *Salmonella* spp. (VILÀ *et al.*, 2009) e à melhora da imunidade do animal (KHAKSEFIDI e GHOORCHI, 2006). O contato com o ambiente logo após o nascimento favorece o desenvolvimento mais rápido da microbiota; esta, formada logo após a eclosão, interage com o trato digestório e com o sistema imunológico dos animais, podendo afetá-los de forma positiva ou negativa. A presença de bactérias benígnas em diferentes porções do trato gastrointestinal, como *Lactobacillus* sp., *Bacillus* spp., entre outras, pode ocorrer pela associação com a camada de mucoo pela adesão à superfície e células epiteliais. Esta adesão atua como uma barreira física de defesa contra os micro-organismos nocivos e contra toxinas (NOUSIAINEN *et al.*, 2005).

2.4. *Bacillus* spp.

Os *Bacillus* pertencem à ordem Eubacteria, família Bacillaceae, que compreende um grupo de bactérias Gram-positivas (HOLT *et al.*, 1994; FRITZE, 2004). O gênero *Bacillus* spp. e os gêneros geneticamente próximos a ele ocupam um lugar expressivo em virtude de apresentarem muitas espécies úteis ao homem. Poucas espécies são patogênicas, e as demais despontam, preferencialmente, como micro-organismos de importância industrial, pois geram produtos que são comercializados. Diferentes enzimas, antibióticos, inseticidas bacterianos e probióticos e outros compostos orgânicos são produzidos em escala industrial graças a esses micro-organismos. Por este motivo, essas bactérias são muito estudadas sob os mais variados aspectos. Por muito tempo, *B. subtilis* foi considerado como sendo estritamente aeróbico (NOUSIAINEN e SETÄLÄ, 2005). Estudos recentes, no

entanto, mostraram a capacidade de crescimento desta espécie em anaerobiose, utilizando nitrato ou nitrito como aceptores finais de elétrons, ou, na ausência destes, por fermentação em meios de cultivo contendo glucose e piruvato (NAKANO *et al.*, 1997; NAKANO e ZUBER, 1998; RAMOS *et al.*, 2000; YE *et al.*, 2000). São microorganismos altamente resistentes em condições adversas presentes no meio ambiente, devido à capacidade de formação de esporos, que suportam extremos de temperatura e pH, dessecação e radiação ultravioleta, podendo atuar em todo o trato gastrointestinal das aves. (DRIKS, 2004; PIGGOT e HILBERT, 2004).

Os bacilos, quando usados no ambiente, agem por um mecanismo de inibição competitiva que consiste em inocular a cama com quantidades bastante elevadas de bactérias que tenham condições de se multiplicar e predominar sobre populações bacterianas potencialmente patogênicas. Essa inibição acontece através de dois mecanismos: efeito físico, que ocorre a partir de um grande inóculo inicial e de uma grande capacidade de multiplicação, levando à rápida colonização da cama e a ocupação dos espaços disponíveis; e efeito químico, através da liberação de enzimas proteases para o meio, que têm efeito na viabilidade das principais bactérias de importância avícola. Esses efeitos reduzem a chance das aves se contaminarem com bactérias nocivas ao ciscarem, reduzindo o estresse imunológico e a ocorrência de doenças (PAGANINI, 2000).

A inibição competitiva causada pelo probiótico no ambiente ao qual ele foi inoculado acarreta em melhorias na produtividade, pois a redução ambiental da carga bacteriana se reflete no desafio imunológico a nível de trato digestório, o que por sua vez leva a um benefício em conversão alimentar e diminuindo de cerca de 60% das bactérias potencialmente patogênicas na cama, possibilitando a sua reutilização caso necessário (PAGANINI, 2000).

2.5. *Salmonella* spp.

Salmonella spp. é um dos patógenos transmitidos por alimentos mais importantes no mundo (NGUYEN, YANG e YUK, 2014). Apesar de doenças causadas pela ingestão de alimentos contaminados não serem reportadas em sua totalidade no Brasil, dados do Ministério da Saúde (2020) indicam que, nos últimos anos,

Salmonella spp. foi o principal agente encontrado em surtos de doenças transmitidas por alimentos.

Bactérias do gênero *Salmonella* estão entre os patógenos de maior destaque na avicultura, já que a carne de frango é a maior fonte pela qual humanos adquirem salmonelose, e por isso vêm sendo amplamente estudadas dentro da cadeia de produção. As aves acometidas podem desenvolver doença clínica ou ficarem assintomáticas, nesse caso, servindo como reservatório e se tornando uma fonte em potencial de transmissão para humanos (SILVA e DUARTE, 2002).

Superfícies contaminadas com *Salmonella* spp. podem servir como fontes de contaminação para alimentos pela contaminação cruzada. Sua sobrevivência em tais superfícies pode ser explicada pela produção de biofilme, assim como a permanência em ambientes onde há processamento de alimentos oriundos de animais contaminados previamente pelo patógeno (CORCORAN *et al.*, 2013; SIMÕES; SIMÕES e VIEIRA, 2010; VESTBY *et al.*, 2009).

Por, claramente, não ser uma ação de fácil aplicabilidade, muitas pesquisas vêm sendo feitas no sentido de abordar o problema do controle de *Salmonellas* em aves por diversos métodos (BARUZZI *et al.*, 2011; JALILSOOD *et al.*, 2015), como, por exemplo, pelo do uso ação probiótica de BS, que é o focodo presente trabalho.

2.6. *Campylobacter* spp.

O gênero *Campylobacter* abriga diversas espécies zoonóticas, sendo as principais *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli*. Estas espécies impactam a saúde pública, pois são responsáveis pela maior parte dos casos confirmados de campilobacteriose em humanos (GILLISS *et al.*, 2013). Além de quadros de gastroenterite, *C. jejuni* também é associada a neuropatias como as Síndromes de Guillain-Barré e Miller-Fisher (NACHAMKIN *et al.*, 1998; SALLOWAY *et al.*, 1996), onde ocorre uma mimetização entre os lipo-oligosacarídeos da bactéria e gangliosídeos humanos, levando a uma resposta autoimune no organismo do hospedeiro (VAN DEN BERG 2014).

O número de casos de campilobacteriose continua aumentando e, anualmente, o número de casos reportados representa apenas aqueles que foram confirmados; mas há, todos os anos, inúmeros casos não reportados. Os alimentos que mais acarretam essa doença, nesses casos, são carnes, principalmente de frango e leite

não pasteurizado (EFSA 2021).

No caso dos frangos, a colonização ocorre predominantemente por *Campylobacter jejuni* (HOEPERS *et al.*, 2016). Os frangos adquirem o patógeno principalmente pela via fecal-oral. No intestino dessas aves, as bactérias colonizam principalmente o intestino grosso nas porções ceco e cólon e, em menor extensão, intestino delgado. Há relatos de isolamento de *Campylobacter* em fígado, baço e sangue, sugerindo uma possível invasão do epitélio intestinal e, assim, a colonização se torna sistêmica (KNUDSEN *et al.*, 2006).

A *Campylobacter* spp., era considerada uma bactéria inofensiva para a microbiota intestinal das galinhas, porém, já há relatos sugerindo que ela é capaz de induzir dano ao epitélio intestinal pelo comprometimento das *tight-junctions* intracelulares, ou junções rígidas, controlando as funções de barreira, e estimulando uma resposta inflamatória insatisfatória por parte do hospedeiro (AWAD *et al.*, 2015; HUMPHREY *et al.*, 2014; REES *et al.*, 2008).

Apesar de *C. jejuni* ser extremamente difundida, ela não se multiplica em ambiente natural aeróbico devido à sua característica de crescimento microaerófilo. Ainda que nem todo ambiente natural onde ela habite seja necessariamente aeróbico, é difícil explicar a alta incidência de infecção, particularmente pelo fato de que, quando comparada com vários outros patógenos gastrointestinais, *C. jejuni* raramente é transmitida entre humanos (MAN, 2011).

3 MATERIAIS E METODOS

As bactérias patogênicas testadas foram oriundas de amostras de frango coletadas a campo e as cepas de BS foram isoladas de diferentes locais da agricultura e pecuária. Foram testados diferentes isolados de bactérias patogênicas: *Salmonella Heidelberg*(SH), *Salmonella Enteritidis*(SE), *Salmonella Infantis*(SI), *Salmonella Minnesota*(SM), *Salmonella Typhimurium*(ST), Variante de *Salmonella* monofásica (SVM), *Campylobacter jejuni* CJ. Um total de três (3) cepas de BS, identificadas como cepas G, E e C foram selecionadas por apresentarem efeitos negativos em testes de citotoxicidade e toxicidade em modelos animais (dados não publicados). Paralelamente uma cepa comercial de BS (DSM 17299) foi usada como controle. O experimento foi conduzido no Laboratório de Doenças Infecto contagiosas da

Universidade Federal de Uberlândia.

Para avaliar o efeito inibitório dos BS sobre cada bactéria patogênica, 5uL de cada cepa de BS diluída em solução salina na quantidade de 10^8 UFC/mL, foi inoculada na superfície, no centro da placa de ágar com nutriente. As placas foram incubadas a 34°C por 24 horas. No dia seguinte, as placas com BS foram inativadas com vapor de clorofórmio por 30 minutos. Após a retirada do clorofórmio, diferentes isolados de cada bactéria patogênica (SE, ST, SI, SH, SM e SVM) foram diluídas em solução salina na concentração de 10^8 UFC/mL. A seguir, 10uL do meio de cultura de cada isolado de *Salmonella* foi adicionada à 10 mL de ágar com nutriente ainda líquido (45°C) e inoculadas ao redor de cada BS inativada. As placas foram incubadas em aerofilia a 37°C por 24 horas. O mesmo protocolo foi utilizado para CJ porém o ágar usado foi oCCDA e a incubação ocorreu na temperatura de 37°C por 48 horas em atmosfera demicroaerofilia. O halo de inibição formado ao redor do *spot* da cultura bacteriana foi medido em milímetros com o auxílio de uma régua milimetrada. O resultado foi avaliado a partir da média de oito direções diferentes com todos os spots de cultura ajustados para 0,65mm. A determinação da capacidade inibitória dos isolados foi realizada de acordo com Santos (1984), sendo considerada como inibição muito forte as zonas acima de 20 mm de diâmetro; inibição forte, de 15 a 19 mm; moderada, de 11 a 14 mm; fraca, de 9 a 10 mm; e nenhuma inibição, menor que 9 mm. Para cada bactéria patogênica as análises foram feitas em triplicata. O resultado final foi dado em média e desvio padrão, a diferença estatística foi realizada utilizando teste de ANOVA ($p < 0,05$) seguido pelo teste de Tukey com auxílio do programa GraphPad Prism 9.0 e uma significância de 0,05.

4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Tabela 1 Halos de inibição do crescimento de cepas de *Salmonella* e *Campylobacter* por metabólitos de *Bacillus subtilis* comercial (DSM) e isolados de campo (C, E e G)

	C	E	G	DSM
SH 1	0.88 (+/-0.20)a	1.11 (+/-0.04)a	1.28 (+/-0.35)a	1.32 (+/-0.21)a
SH 2	1.23 (+/-0.08)a	0.65 (+/-0.00)b	1.28 (+/-0.14)a	1.33 (+/-0.08)a
SH3	1.06 (+/-0.15)ab	1.74 (+/-0.43)a	1.50 (+/-0.35)ab	0.93 (+/-0.15)b
SE	1.28 (+/-0.12)a	1.08 (+/-0.37)a	1.25 (+/-0.07)a	1.26 (+/-0.04)a
ST1	1.00 (+/-0.30)a	1.18 (+/-0.50)a	1.18 (+/-0.06)a	1.29 (0.03)a
ST2	1.02(+/-0.01)ab	1.03 (+/-0.04)a	1.22 (+/-0.06)c	0.89 (+/-0.07)b
ST3	1.1(+/-0.21)a	1.12(+/-0.28)a	1.21(+/-0.06)a	0.9(+/-0.07)a
ST4	1.05(+/-0.17)ab	1.75(+/-0.44)a	1.50(+/-0.35)ab	0.94(+/-0.16)b
ST5			1.47 (+/-0.31)a	1.10 (+/-0.15)a
SM			1.30 (+/-0.10)a	1.15 (+/-0.05)a
SVM			1.50 (+/-0.28)a	1.68 (+/-0.40)a
SI1	1.15(+/-0.0)a	2.48(+/-0.15)b	1.28(+/-0.15)a	0.58(+/-0.07)c
SI2	1.72(+/-1.0)a	3.17(+/-0.19)b	3.33(+/-0.35)b	0.58(+/-0.07)a
CJ IAL	1.65 (+/-0.43)a	1.44 (+/-0.35)a	1.69 (+/-0.16)a	2.1 (+/-0.61)a
CJ 1			2.12 (+/-0.10)a	0.66 (+/-0.01)b
CJ 2			2.97 (+/-0.05)a	2.96 +/-0.33)a

SH1, SH2, SH3: diferentes cepas de *Salmonella* Heidelberg, SE: *Salmonella* Enteritidis, ST1, ST2, ST3, ST4, ST5: diferentes cepas de *Salmonella* Typhimurium, S.M.: *Salmonella* Minnesota. SVM: Variante de *Salmonella* monofásica. SI1, SI2: diferentes cepas de *Salmonella* Infantis. CJ IAL: *C. jejuni* IAL. CJ1 e CJ2: *Campylobacter jejuni*. *Salmonella*, CJ1, e CJ2 I foram isolados de carne de frango. CJ IAL foi isolado de humanos (Fonseca et al., 2014). As cores indicam diferentes níveis de inibição. Azul: halo de inibição muito forte acima de 2,0 cm de largura; Amarelo: inibição forte de 1,5 a 1,9 cm; Roxo: inibição moderada de 1,1 a 1,4 cm; Cinzento: inibição fraca de 0,9 a 1 cm; Branco: inibição ausente menor que 0,9 cm (Santos et al., 1984). Realizámos o teste ANOVA e Tukey ($p < 0,05$). Diferentes letras na mesma linha significam diferença estatística.

5 RESULTADOS

A tabela 1 mostra os resultados do efeito das diferentes cepas de BS sobre o crescimento de 16 isolados de SH, SI, ST, SE, SM, SVM e CJ. Os resultados mostram que o nível de efeito da inibição parece ser isolado dependente. Para três (3) SH testadas, a cepa G apresentou um efeito de inibição moderado ou forte que foi superior a cepa E na inibição de SH2. Embora a cepa C tenha apresentado um resultado que a classifica como fraca inibição ou sem inibição para os isolados SH1 ou SH3 não houve diferença estatística com as cepas G ou cepa controle de mercado (DSM). A cepa C de BS não inibiu ou apresentou fraco efeito inibitório sobre SH1 e SH3 respectivamente.

Para SE, as cepas de BS (C e G) levaram uma inibição moderada que foi similar a cepa controle de mercado (DSM). Já a cepa E de BS resultou em uma fraca inibição sobre a SE. Apesar do fraco efeito inibitório da cepa E sobre a SE não houve diferença estatística entre as demais cepas de BS.

As cepas E e G apresentaram um efeito de inibição moderado ou forte sobre a ST. As cepas E e G apresentaram efeitos inibitórios maiores que a cepa controle sobre a ST2 e a cepa E um efeito inibitório maior que a cepa controle para ST4.

Apenas a cepa G foi testada para avaliação do efeito inibitório sobre o isolado do sorotipo SM e SVM por causa da seu menor efeito toxico. O efeito inibitório foi moderado e similar a cepa controle para SMe forte para SVM.

O efeito inibitório sobre o SI foi muito forte, forte e moderada em todas as cepas, com exceção da cepa padrão de mercado que não apresentou nenhum tipo de inibição. Deve se observar que a cepa E e a cepa G obtiveram os melhores resultados. O efeito inibitório sobre a CJ IAL foi moderado (cepa E), forte (C e G) e muito forte (cepa controle DSM), embora não tenha havido diferença estatística. A avaliação do efeito inibitório sobre CJ1 e CJ2 foi feito apenas para a cepa G que apresentou efeito muito forte para ambas as cepas sendo que em CJ1 o efeito foi maior que o controle DSM.

6 DISCUSSÃO

Em diversos países, tem se desenvolvido normas e medidas rigorosas de controle e redução dos níveis de patógenos dentro dos estabelecimentos avícolas, em especial, no Brasil que é o maior exportador de carne de frango do mundo. Dentre tais patógenos, *Salmonella* é de controle obrigatório, e embora não haja obrigatoriedade para controle de CJ, essa é uma bactéria importante por levar gastroenterite em humanos e causar importantes síndromes auto imunes (MELO, 2017). O controle de *Salmonella* e CJ exige práticas de manejo sanitários associados ao uso de produtos como por exemplo, os probióticos. A inibição das bactérias patogênicas pelas bactérias probióticas ocorre pela produção de alguns metabólitos. Os metabólitos produzidos podem ser ácidos, principalmente o lático e o acético, dióxido de carbono, peróxido de hidrogênio, bacterocinas e peptídeos antimicrobianos. Micro-organismos probióticos também inibem bactérias patogênicas, pois aderem mais facilmente a mucosa do hospedeiro impedindo adesão e a multiplicação dos patógenos (KURITIZA *et al*, 2014). Os efeitos positivos das bactérias probióticas apresenta uma grande vantagem sobre os antibióticos, já que são seguras e não levam a desenvolvimento de resistência (GUTIÉRREZ *et al*, 2013).

Com o objetivo de selecionar melhores cepas probióticas para uso em aves, várias metodologias são necessárias, e dentre essas, o efeito inibitório. Esse trabalho traz o efeito inibitório de três diferentes cepas de BS sobre 16 isolados patogênicos. A metodologia usada nesse trabalho traz o efeito inibitório dos BS a partir dos metabólitos produzidos pelo BS. Para ST, SH, SE, SVM o efeito inibitório no geral foi moderado ou fraco e similar ou superior a cepa de mercado, utilizada como controle neste estudo. Mas para SM, SI e CJ os efeitos no geral foram fortes ou muito fortes e superiores ao controle.

Adicionalmente, a cepa G apresentou melhores resultados benéficos em ensaios de toxicidade (dados não publicados) e por isso foram testados contra isolados não estudados para as cepas C e E. Interessantemente, a cepa G foi a única cepa que apresentou algum efeito inibitório sobre todos os isolados patogênicos.

A inibição deste sorovares *in vivo*, a partir de probióticos traz grades benefícios para a produção animal, por melhorar a microbiota intestinal das aves, e impedir que bactérias patogênicas se multipliquem no trato gastrointestinal, diminuindo a prevalência das doenças causadas por estes patógenos.

7 CONCLUSÃO

Os efeitos inibitórios do BS sobre bactérias patogênicas parece ser cepa dependente, com maiores efeitos foram sobre SI e a CJ. No geral, as cepas de BS aqui estudadas apresentaram efeitos de inibição sobre sorotipos de *Salmonella* e a CJ similares ou superiores à cepa comercial, utilizada como controle, o que demonstra o seu potencial para prevenção desses patógenos no campo.

8 REFERÊNCIAS

ADHIKARI, Pratima Acharya; KIM, Woo Kyun. Overview of prebiotics and probiotics: focus on performance, gut health and immunity—a review. **Annals of animal science**, v. 17, n. 4, p. 949-966, 2017..

Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA). Relatório Anual 2020. 2020 682 May 12 [Cited 2020 May 22] Available from: <https://abpa-br.org/abpa-lanca683-relatorio-anual-2020>

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL (ABPA). **Relatório Anual**. 2021. Disponível em: <https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2020/05/abpa_relatorio_anual_2020_portugues_web.pdf>. Acesso em 05 mai. 2021.

AWAD, W. A.; MOLNÁR, A.; ASCHENBACH, J. R.; GHAREEB, K.; KHAYAL, B.; HESS, C.; LIEBHART, D.; DUBLECZ, K.; HESS, M. *Campylobacter* infection in chickens modulates the intestinal epithelial barrier function. **Innate Immunity**, v.21, n.2, p.151–160, 2015.

BARROS, R.; VIEIRA, S. L.; FAVERO, A.; TASCETTO, D.; MASCARELLO, N. C.; CEMIN, H. S. Reassessing flaphospholipol effects on broiler performance. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.41, n.12, p.2458-2462, 2012.

BARUZZI, F.; QUINTIERI, L.; MOREA, M.; CAPUTO, L. Antimicrobial compounds

produced by *Bacillus* spp. and applications in food. **Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances**, v.2, p.1102-1111, 2011.

Boyen, F., Haesebrouck, F., Maes, D., Van Immerseel, F., Ducatelle, R., Pasmans, F., 2008. Non-typhoidal *Salmonella* infections in pigs: a closer look at epidemiology, pathogenesis and control **Veterinary microbiology** v130, p119, 2008.

CASTANON, J. I. R. History of the use of antibiotic as growth promoters in european poultry feeds. **Poultry Science**, v.86, p.2466-2471, 2007.

CHANTZIARAS, I. BOYEN, F.; CALLENS, B.; DEWULF, J. Correlation between veterinary antimicrobial use and antimicrobial resistance in food-producing animals: a report on seven countries. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.69, n.3, p. 827-834, 2014.

CORCORAN, M.; MORRIS, D.; DE-LAPPE, N.; O-CONNOR, J.; LALOR, P.; DOCKERY, P.; CORMICAN, M. *Salmonella enterica* biofilm formation and density in the Centers for Disease Control and Prevention's biofilm reactor model is related to serovar and substratum. **Journal of food protection**, v.76, n.4, p. 662-667, 2013.

CORRÊA, G. S. S.; GOMES, A. V. C.; CORREA, A. B.; SALLES, A. S.; MATTOS, E. S. Efeito de antibiótico e probióticos sobre o desempenho e rendimento de carcaça frangos de corte. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.55, n.4, p 467-473, 2003.

COSTA, P. M.; SILVA, D. M.; MIRANDA, J. **Ensaio de Campo com a Vacina Paracox5 em Frangos Criados em Regime Extensivo**, 2001.

COSTA, S. (ed). **A saga da avicultura brasileira**: como o Brasil se tornou o maior exportador mundial de carne de frango. São Paulo: UBABEF, 2011.

DRIKS, A. The *Bacillus* spore coat. **Phytopathology**, v.94, n.11, p.1249-1251, 2004

DUTIL, L. Ceftiofur resistance in *Salmonella* enterica serovar heidelberg from chicken meat and humans, Canada. *Emerging Infectious Diseases*, Atlanta, v. 16, n. 1, p. 48-54, 2010.

European Food Safety Authority [EFSA] and European Centre for Disease Prevention [ECDC]. (2016). The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2014. *EFSA J.* 14, 4380.

ELLIS-IVERSEN, J. et al. Risk Factors for *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in young cattle on English and Welsh farms. *Preventive Veterinary Medicine*, v. 88, n. 1, p. 42-48, 2009.

ESPÍNDOLA, C.J. Trajetórias do progresso técnico na cadeia produtiva de carne de frango do Brasil. **Revista Geosul**, Florianópolis, v.27, n.53, p.89-113, 2012.

EFSA - European Food Safety Authority. ECDC - European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Foodborne Outbreaks in 2015. *EFSA Journal*, v. 14, n. 12, 231p. 2016.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY AND EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL (EFSA AND ECDC). The European Union one health 2020 zoonoses report. *EFSA Journal*, v. 17, n. 12, p. e05926, 2019.

EUROPEAN UNION LEX. EC REGULATION n.1831/2003. Disponível em : <<http://data.europa.eu/eli/reg/2003/1831/oj>>. Acesso em: 01 mai. 2021.

FRITZE, D. Taxonomy of the genus *Bacillus* and related genera: The aerobic endospore-forming Bacteria. **Phytopathology**, v.94, n.11, p.1245-1248, 2004. GILLIS, D., CRONQUIST, A. B., CARTTER, M. Incidence and trends of infection with pathogens transmitted commonly through food - foodborne diseases active surveillance network, 10 U.S. sites, 1996-2012. **MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report**, v.62, n.15, p.283-287, 2013.

GUERRIERI, E.; NIEDERHÄUSERN, S.; MESSI, P.; SABIA, C.; ISEPPI, R.; ANACARSO, A.; BONDI, M. Use of lactic acid bacteria (LAB) biofilms for the control of *Listeria monocytogenes* in a small-scale model. **Food Control**, v.20, n.9, p.861-865, 2009.

GUTIÉRREZ RAMÍREZ, Luz Adriana; MONTOYA, Olga Inés; VÉLEZ ZEA, Juliana María. Probióticos: uma alternativa de produção limpa e de substituição aos antibióticos promotores de crescimento na alimentação animal. *Producción+ limpia*, v. 8, n. 1, p. 135-146, 2013.

HAWKEY, P. M. The growing burden of antimicrobial resistance. **Journal of antimicrobial chemotherapy**, v. 62, n. suppl_1, p. i1-i9, 2008.

HOEPERS, P.G.; MEDINA, G.; ROSSI, D. A.; FERNANDEZ, H. About *Campylobacter*. In: FONSECA, B. B.; FERNANDEZ, H.; ROSSI, D. A. ***Campylobacter spp. and Related Organisms in Poultry***. Cham: Springer, p.1-18, 2016.

HOLT, J. G.; KRIEG, N. R.; SNEATH, P. H. A.; STANLEY, J. T.; WILLIAMS, S. T. **Bergey's manual of determinative bacteriology**. Baltimore: Willians & Wilkins, 1994.

HUMPHREY, S.; CHALONER, G.; KEMMETT, K.; DAVIDSON, N.; WILLIAMS, N.; KIPAR, A.; HUMPHREY, T. J.; WIGLEY, P. *Campylobacter jejuni* is not merely a commensal in commercial broiler chickens and affects birdwelfare. **MBio**, v.5, n.4, p.1–7, 2014.

HUYGHEBAERT, G.; DUCATELLE, R.; Van IMMENSEEL, F. An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. **Veterinary Journal**, v.187, n.2, p.182-188, 2011.

JALILSOOD, T.; BARADARAN, A.; SONG, A. A. L.; FOO, H. L.; MUSTAFA, S.; SAAD, W. Z.; YUSOFF, K.; RAHIM, R. A. Inhibition of pathogenic and spoilage bacteria by anovel biofilm-forming *Lactobacillus* isolate: a potential host for the expression of heterologous proteins. **MicrobialCell Factories**, v.14, n.1, p.96-98, 2015.

JANG, K. I. et al. Morphology and adhesion of *Campylobacter jejuni* to chicken skin under varying conditions. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 17, n. 2, p. 202-206, 2007.

KHAKSEFIDI, A.; GHOORCHI, T. Effect of probiotic on performance and immunocompetence in broiler chicks. **Journal of Poultry Science**, v.43, n.3, p.296-300, 2006.

KIRCHHELLE, C. Pharming animals: a global history of antibiotics in food production (1935–2017). **Palgrave Commun** 4, 96 2018.

KIRCHHELLE, C. 2020. Pyrrhic progress antibiotics in Anglo-American food production 1935–2013. **Newark: Rutgers University Press**.

Kuritza, L. N., Westphal, P., & Santin, E. 2014. Probióticos na avicultura. **Ciência Rural**, 44, 1457-1465.

KNUDSEN, K.N.; BANG, D.D.; ANDRESEN, L.O., MADSEN, M. *Campylobacter jejuni* strains of human and chicken origin are invasive in chicken after oral challenge. **Avian Diseases**, v. 50, n.1, p.10–14, 2006.

LEE, K.; LILLEHOJ, H. S.; SIRAGUSA, G. R. Direct-fed antimicrobials and their impact on the intestinal microflora and immune system of chickens. **Journal of, Poultry Science**, v.47, n.2, p.106-114, 2010.

MACHADO, Gilmar B. et al. Impacto da salmonelose na suinocultura e suas implicações em saúde pública. **Arquivos do Instituto Biológico**. São Paulo, v. 83, 2016.

MAN, S. M. The Clinical importance of emerging *Campylobacter* species. **Nature reviews Gastroenterology & Hepatology**, v.8, n.12, p.669-685, 2011.

MELO, R. T.; NALEVAIKO, P.C.; MENDONÇA, E. P.; BORGES, L. W.; FONSECA, B. B.; BELETTI, M. E.; ROSSI, D. A. *Campylobacter jejuni* strains isolated from chicken meat harbour several virulence factors and represent a potential risk to humans. **Food Control**, v.33, n.1, p.227-231, 2013.

MELO, Roberta Torres de et al. **Emergência de *Campylobacter jejuni* no setor avícola e na saúde pública do Brasil**. 2017.

MENDONÇA, E. P.; FONSECA, B. B.; MONTEIRO, G. P. Epidemiology of *Campylobacter* in Farms. In: FONSECA, B. B.; FERNANDEZ, H.; ROSSI, D. A. (eds). ***Campylobacter* spp. and Related Organisms**. Cham: Springer, 2016, p. 125-136.

MINISTERIO DA SAUDE; *SALMONELLA*, SALMONELOSE;24/11/2020; Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/s/salmonella-salmonelose>; Acesso em:27/07/2022

NACHAMKIN, I.; ALLOS, B. M.; HO, T. *Campylobacter* species and Guillain-Barre syndrome. **Clinical Microbiology Reviews**, v.11, p.555–567, 1998.

NAKANO, M. M.; HULETT, F. M. Adaptation of *Bacillus subtilis* to oxygen limitation. **FEMS Microbiology Letters**, v.157, n.1, p.1-7, 1997.

NAKANO, M. M.; ZUBER, P. Anaerobic growth of a “strict aerobe” (*Bacillus subtilis*). **Annual Review of Microbiology**, v.52, p.165-190, 1998.

NGUYEN, H. D. N., YANG, Y. S., YUK, H. G. Biofilm formation of *Salmonella* Typhimurium on stainless steel and acrylic surfaces as affected by temperature and pH level. **LWT – Food Science and Technology**, v.55, n.1, p.383-388, 2014.

Nógrády, N., Kardos, G., Bistyák, A., Turcsányi, I., Mészáros, J., Galántai, Z., et al. (2008). Prevalence and characterization of *Salmonella* infantis isolates originating from different points of the broiler chicken-human food chain in Hungary. *Int. J. Food Microbiol.* 127, 162–167. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2008.07.005

NOUSIAINEN, J.; SETÄLÄ, J. Lactic acid bacteria as animal probiotics. In: VINDEROLA, G.; OUWERHAND, A.; SALMINEN, S.; von WRIGHT, A. **Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects**. Nova York: Marcel Dekker, p.100-150, 2005.

OYARZABAL, O. A., FERNÁNDEZ, H. Isolation and Identification of *Campylobacter* spp. in Poultry. In: FONSECA, B. B.; FERNANDEZ, H.; ROSSI, D. A. (eds). ***Campylobacter* spp. and Related Organisms in Poultry**. Cham:Springer, p.19-36, 2016.

PAGANINI, F. J. **Inibição competitiva no ambiente de produção de frangos**. 2000. Disponível em: <http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc_publicacoes/anais9000_paganini.pdf>. Acesso em: 03 mai. 2021.

PIGGOT, P. J.; HILBERT, D. W. Sporulation in *Bacillus subtilis*. **Current Opinion in Microbiology**, v.7, p.1-8, 2004.

RAMOS, H. C.; HOFFMANN, T.; MARINO, M.; NEDJARI, H.; PRESECAN-SIEDEL, E.; DREESEN, O.; GLASER, P.; JAHN, D. Fermentative metabolism of *Bacillus subtilis*: physiology and regulation of gene expression. **Journal of Bacteriology**, v.182, n.16, p.3072- 3080, 2000.

RECK, A. B.; SCHULTZ, G. Aplicação da metodologia multicritério de apoio à decisão no relacionamento interorganizacional na cadeia da avicultura de corte. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v.54, n.4, p.709-728, 2016.

REES, L.E.; COGAN, T. A.; DODSON, A. L.; BIRCHALL, M. A.; BAILEY, M.; HUMPHREY, T. J. *Campylobacter* and IFN gamma interact to cause a rapid loss of epithelial barrier integrity. **Inflammatory Bowel Diseases**, v.14, n. 3, p. 303–309, Março 2008.

SALLOWAY, S.; MERMEL, L. A.; SEAMANS, M.; ASPINALL, G. O.; NAM-SHIN, J. E.; KURJANCZYK, L. A.; PENNER, J. L. Miller-Fisher syndrome associated with *Campylobacter jejuni* bearing lipopolysaccharide molecules that mimic human ganglioside GD3. **Infection and Immunity**, v.64, n.8, p.2945-2949, 1996.

SALMINEN, S.; von WRIGHT, A.; MORELLI, L.; MARTEAU, P.; BRASSART, D.; VOS, W. M.; FONDÉN, R.; SAXELIN, M.; COLLINS, K.; MOGENSEN, G.; BIRKELAND, S. E.; MATTILA-SANDHOLM, T. Demonstration of safety of probiotics - a review. **International Journal of Food Microbiology**, v.44, p.93-106, 1998.

SANTOS, N.S. Isolamento e caracterização de *Lactobacillus acidophilus* de fezes de crianças alimentadas ao seio e de bezerros, visando a sua utilização como adjunto dietético. Viçosa: UFV, 1984. 69p. **Dissertação (Mestrado)** - Universidade Federal de Viçosa, 1984.

SHINOHARA, N. K. S.; BARROS, V. B.; JIMENEZ, S. M. C.; MACHADO, E. C. L.; DUTRA, R. A. F.; LIMA-FILHO, J. L. *Salmonella* spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos. **Ciência & Saúde Coletiva**, v.13, n.5, p.1675-1683, 2008.

SILVA, E. N.; DUARTE, A. *Salmonella* Enteritidis em aves: Retrospectiva no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Avícolas**, v.4, n.2, p.85-100, 2002.

SILVA, Gabriela Viana da. Controle de *Campylobacter* sp.em Frangos de Corte pelo Uso de Probióticos e Simbióticos como Alternativa aos Antibióticos. 2017. 80 f. **Tese (Doutorado)** - Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rj, 2017.

SIMÕES, M.; SIMÕES, L. C.; VIEIRA, M. J. A review of current and emergent biofilm control strategies. **LWT – Food Science and Technology**, v.43, n.4, p.573-583,2010.SPERANZA, B; SINIGAGLIA, M; CORBO, M. R. Nonstarter lactic acid bacteria biofilms: a means to control the growth of *Listeria monocytogenes* in soft cheese. **Food Control**, v.20, n.11, p.1063-1067, 2009.

STANTON, T. B. A call for antibiotic alternatives research. **Trends in microbiology**, v.21, n.3, p.111-113, 2013.

TALAMINI, D. J. D.; MARTINS, F. M.; SANTOS-FILHO, J. I. **Conjuntura econômica da avicultura brasileira em 2018**. 2018. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/190390/1/final9033.pdf>>. Acesso em: 03 mai. 2021.

Uzzau, S., Brown, D.J., Wallis, T., Rubino, S., Leori, G., Bernard, S., Casadesus, J., Platt, D.J., Olsen, J.E., 2000. Host adapted serotypes of *Salmonella* enterica. *Epidemiol Infect* 125, 229-255.

VAN DEN BERG, Bianca et al. Guillain–Barré syndrome: pathogenesis, diagnosis, treatment and prognosis. *Nature Reviews Neurology*, v. 10, n. 8, p. 469-482, 2014.

VESTBY, L. K.; MORETRO, T.; LANGSRUD, S.; HEIR, E.; NESSE, L. L. Biofilm forming abilities of *Salmonella* are correlated with persistence in fish meal and feed factories. **BMC Veterinary Research**, v.5, n.1, p.20-25, 2009.

VILÀ, B.; FONTGIBELL, A.; BADIOLA, I.; ESTEVE-GARCIA, E.; JIMÉNEZ, G.; CASTILLO, M.; BRUFAU, J. Reduction of *Salmonella* enterica var. Enteritidis colonization and invasion by *Bacillus cereus* var. toyoi inclusion in poultry feeds. **Poultry Science**, v.88, n.5, p.975-979, 2009.

YE, R. W.; TAO, W.; BEDZYK, L.; YOUNG, T.; CHEN, M.; LI, L. Global gene expression profiles of *Bacillus subtilis* grown under anaerobic conditions. **Journal of Bacteriology**, v.182, n.16, p.4458-4465, 2000.

YUKI, N. Molecular mimicry between gangliosides and lipopolysaccharides of *Campylobacter jejuni* isolated from patients with Guillain-Barré syndrome and Miller-Fisher syndrome. **The Journal of Infectious Diseases**, v.176, n.2, p.150-153, 1997.

heterologous proteins. **MicrobialCell Factories**, v.14, n.1, p.96-98, 2015.

JANG, K. I. et al. Morphology and adhesion of *Campylobacter jejuni* to chicken skin under varying conditions. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 17, n. 2, p. 202-206, 2007.

KHAKSEFIDI, A.; GHOORCHI, T. Effect of probiotic on performance and immunocompetence in broiler chicks. **Journal of Poultry Science**, v.43, n.3, p.296-300, 2006.

KIRCHHELLE, C. Pharming animals: a global history of antibiotics in food production (1935–2017). **Palgrave Commun** 4, 96 (2018).

KIRCHHELLE, C. (2020). Pyrrhic progress antibiotics in Anglo-American food production 1935–2013. **Newark: Rutgers University Press**.

Kuritz, L. N., Westphal, P., & Santin, E. (2014). Probióticos na avicultura. **Ciência Rural**, 44, 1457-1465. KNUDSEN, K.N.; BANG, D.D.; ANDRESEN, L.O., MADSEN, M. *Campylobacter jejuni* strains of human and chicken origin are invasive in chicken after oral challenge. **Avian Diseases**, v. 50, n.1, p.10–14, Fevereiro 2006.

LEE, K.; LILLEHOJ, H. S.; SIRAGUSA, G. R. Direct-fed antimicrobials and their impact on the intestinal microflora and immune system of chickens. **Journal of, Poultry Science**, v.47, n.2, p.106-114, 2010.

MACHADO, Gilmar B. et al. Impacto da salmonelose na suinocultura e suas implicações em saúde pública. **Arquivos do Instituto Biológico**. São Paulo, v. 83, 2016.

MAN, S. M. The Clinical importance of emerging *Campylobacter* species. **Nature reviews Gastroenterology & Hepatology**, v.8, n.12, p.669-685, 2011.

MELO, R. T.; NALEVAIKO, P.C.; MENDONÇA, E. P.; BORGES, L. W.; FONSECA, B. B.; BELETTI, M. E.; ROSSI, D. A. *Campylobacter jejuni* strains isolated from chicken meat harbour several virulence factors and represent a potential risk to humans. **Food Control**, v.33, n.1, p.227-231, 2013.

MELO, Roberta Torres de et al. **Emergência de *Campylobacter jejuni* no setor avícola e na saúde pública do Brasil**. 2017.

MENDONÇA, E. P.; FONSECA, B. B.; MONTEIRO, G. P. Epidemiology of *Campylobacter* in Farms. In: FONSECA, B. B.; FERNANDEZ, H.; ROSSI, D. A. (eds). ***Campylobacter spp. and Related Organisms***. Cham: Springer, 2016, p. 125-136.

MINISTERIO DA SAUDE; *SALMONELLA*, SALMONELOSE;24/11/2020; Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/s/salmonella-salmonelose>; Acesso em:27/07/2022

NAKANO, M. M.; HULETT, F. M. Adaptation of *Bacillus subtilis* to oxygen limitation.

FEMS Microbiology Letters, v.157, n.1, p.1-7, 1997.

NAKANO, M. M.; ZUBER, P. Anaerobic growth of a “strict aerobe” (*Bacillus subtilis*). **Annual Review of Microbiology**, v.52, p.165-190, 1998.

NGUYEN, H. D. N., YANG, Y. S., YUK, H. G. Biofilm formation of *Salmonella* Typhimurium on stainless steel and acrylic surfaces as affected by temperature and pH level. **LWT – Food Science and Technology**, v.55, n.1, p.383-388, 2014.

Nógrády, N., Kardos, G., Bistyák, A., Turcsányi, I., Mészáros, J., Galántai, Z., et al. (2008). Prevalence and characterization of *Salmonella* infantis isolates originating from different points of the broiler chicken-human food chain in Hungary. *Int. J. Food Microbiol.* 127, 162–167. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2008.07.005

NOUSIAINEN, J.; SETÄLÄ, J. Lactic acid bacteria as animal probiotics. In: VINDEROLA, G.; OUWERHAND, A.; SALMINEN, S.; von WRIGHT, A. **Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects**. Nova York: Marcel Dekker, p.100-150, 2005. OYARZABAL, O. A., FERNÁNDEZ, H. Isolation and Identification of *Campylobacter* spp. in Poultry. In: FONSECA, B. B.; FERNANDEZ, H.; ROSSI, D. A. (eds.). **Campylobacter spp. and Related Organisms in Poultry**. Cham:Springer, p.19-36, 2016.

PAGANINI, F. J. **Inibição competitiva no ambiente de produção de frangos**. 2000. Disponível em: <http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc_publicacoes/anais9000_paganini.pdf>. Acesso em: 03 mai. 2021.

PIGGOT, P. J.; HILBERT, D. W. Sporulation in *Bacillus subtilis*. **Current Opinion in Microbiology**, v.7, p.1-8, 2004.

RAMOS, H. C.; HOFFMANN, T.; MARINO, M.; NEDJARI, H.; PRESECAN-SIEDEL, E.; DREESEN, O.; GLASER, P.; JAHN, D. Fermentative metabolism of *Bacillus subtilis*: physiology and regulation of gene expression. **Journal of Bacteriology**, v.182, n.16, p.3072- 3080, 2000.

RECK, A. B.; SCHULTZ, G. Aplicação da metodologia multicritério de apoio à decisão no relacionamento interorganizacional na cadeia da avicultura de corte. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v.54, n.4, p.709-728, 2016.

REES, L.E.; COGAN, T. A.; DODSON, A. L.; BIRCHALL, M. A.; BAILEY, M.; HUMPHREY, T. J. *Campylobacter* and IFN gamma interact to cause a rapid loss of epithelial barrier integrity. **Inflammatory Bowel Diseases**, v.14, n. 3, p. 303–309, Março 2008. SALLOWAY, S.; MERMEL, L. A.; SEAMANS, M.; ASPINALL, G. O.; NAMSHIN, J. E.; KURJANCZYK, L. A.; PENNER, J. L. Miller-Fisher syndrome associated with *Campylobacter jejuni* bearing lipopolysaccharide molecules that mimic human ganglioside GD3. **Infection and Immunity**, v.64, n.8, p.2945-2949, 1996.

SALMINEN, S.; von WRIGHT, A.; MORELLI, L.; MARTEAU, P.; BRASSART, D.; VOS, W. M.; FONDÉN, R.; SAXELIN, M.; COLLINS, K.; MOGENSEN, G.; BIRKELAND, S. E.; MATTILA-SANDHOLM, T. Demonstration of safety of probiotics - a review. **International Journal of Food Microbiology**, v.44, p.93-106, 1998.

SANTOS, N.S. Isolamento e caracterização de *Lactobacillus acidophilus* de fezes de crianças alimentadas ao seio e de bezerros, visando a sua utilização como adjunto dietético. Viçosa: UFV, 1984. 69p. **Dissertação (Mestrado)** - Universidade Federal de Viçosa, 1984.

SHINOHARA, N. K. S.; BARROS, V. B.; JIMENEZ, S. M. C.; MACHADO, E. C. L.; DUTRA, R. A. F.; LIMA-FILHO, J. L. *Salmonella* spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos. **Ciência & Saúde Coletiva**, v.13, n.5, p.1675-1683, 2008.

SILVA, E. N.; DUARTE, A. *Salmonella* Enteritidis em aves: Retrospectiva no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Avícolas**, v.4, n.2, p.85-100, 2002.

SILVA, Gabriela Viana da. Controle de *Campylobacter* sp. em Frangos de Corte pelo Uso de Probióticos e Simbióticos como Alternativa aos Antibióticos. 2017. 80 f. **Tese (Doutorado)** - Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rj, 2017.

SIMÕES, M.; SIMÕES, L. C.; VIEIRA, M. J. A review of current and emergent biofilm control strategies. **LWT – Food Science and Technology**, v.43, n.4, p.573-583, 2010. SPERANZA, B.; SINIGAGLIA, M.; CORBO, M. R. Nonstarter lactic acid bacteria biofilms: a means to control the growth of *Listeria monocytogenes* in soft cheese. **Food Control**, v.20, n.11, p.1063-1067, 2009.

STANTON, T. B. A call for antibiotic alternatives research. **Trends in microbiology**, v.21, n.3, p.111-113, 2013.

TALAMINI, D. J. D.; MARTINS, F. M.; SANTOS-FILHO, J. I. **Conjuntura econômica da avicultura brasileira em 2018**. 2018. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/190390/1/final9033.pdf>>. Acesso em: 03 mai. 2021.

Uzzau, S., Brown, D.J., Wallis, T., Rubino, S., Leori, G., Bernard, S., Casadesus, J., Platt, D.J., Olsen, J.E., 2000. Host adapted serotypes of *Salmonella* enterica. *Epidemiol Infect* 125, 229-255.

VAN DEN BERG, Bianca et al. Guillain–Barré syndrome: pathogenesis, diagnosis, treatment and prognosis. *Nature Reviews Neurology*, v. 10, n. 8, p. 469-482, 2014.

VESTBY, L. K.; MORETRO, T.; LANGSRUD, S.; HEIR, E.; NESSE, L. L. Biofilm forming abilities of *Salmonella* are correlated with persistence in fish meal and feed factories. **BMC Veterinary Research**, v.5, n.1, p.20-25, 2009.

VILÀ, B.; FONTGIBELL, A.; BADIOLA, I.; ESTEVE-GARCIA, E.; JIMÉNEZ, G.; CASTILLO, M.; BRUFAU, J. Reduction of *Salmonella* enterica var. Enteritidis colonization and invasion by *Bacillus cereus* var. toyoi inclusion in poultry feeds. **Poultry Science**, v.88, n.5, p.975-979, 2009.

YE, R. W.; TAO, W.; BEDZYK, L.; YOUNG, T.; CHEN, M.; LI, L. Global gene expression profiles of *Bacillus subtilis* grown under anaerobic conditions. **Journal of Bacteriology**, v.182, n.16, p.4458-4465, 2000.

YUKI, N. Molecular mimicry between gangliosides and lipopolysaccharides of *Campylobacter jejuni* isolated from patients with Guillain-Barré syndrome and Miller-Fisher syndrome. **The Journal of Infectious Diseases**, v.176, n.2, p.150-153, 1997.