

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
PROGRAMA DE RESIDÊNCIA UNIPROFISSIONAL EM MEDICINA
VETERINÁRIA

ISABELLE EZEQUIEL PEDROSA

**AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE INIBITÓRIA DE CEPAS PROBIÓTICAS
ISOLADAS OU EM *BLEND* SOBRE *Salmonella* Heidelberg**

UBERLÂNDIA

2024

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
PROGRAMA DE RESIDÊNCIA UNIPROFISSIONAL EM MEDICINA
VETERINÁRIA

ISABELLE EZEQUIEL PEDROSA

Trabalho de Conclusão de
Residência Uniprofissional em
Medicina Veterinária da Universidade
Federal de Uberlândia como requisito
parcial para obtenção do título de
especialista em Medicina Veterinária
Preventiva.

Orientador(a): Profa. Dra. Belchiorina Beatriz Fonseca

UBERLÂNDIA

2024

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
PROGRAMA DE RESIDÊNCIA UNIPROFISSIONAL EM MEDICINA
VETERINÁRIA

ISABELLE EZEQUIEL PEDROSA

**AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE INIBITÓRIA DE CEPAS PROBIÓTICAS
ISOLADAS OU EM *BLEND* SOBRE *Salmonella* Heidelberg**

Trabalho de Conclusão de Residência Uniprofissional em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia como requisito parcial para obtenção do título de especialista em Medicina Veterinária Preventiva.

Orientador(a): Profa. Dra. Belchiolina Beatriz Fonseca

Uberlândia, 8 de março de 2024.

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Jandra Pacheco dos Santos

Profa. Dra. Eliane Pereira Mendonça

AGRADECIMENTOS

Agradeço especialmente a minha orientadora pela paciência e a capacidade de me guiar na construção desse trabalho apesar de minhas dificuldades.

Agradeço a incrível equipe do Laboratório de Doenças Infectocontagiosas da Universidade Federal de Uberlândia (LADOC-UFU) que deixou todo o processo mais leve e pacientemente seguem colaborando com o meu crescimento pessoal e acadêmico.

Agradeço ao meu parceiro que salvou muitas noites cansativas com seus cuidados desde a preparação de um jantar elaborado à um simples chá enquanto eu estudava.

Agradeço minha família que pouco entende do universo acadêmico e ainda assim me apoiam de todo coração.

RESUMO

A salmonelose é uma importante doença que acomete humanos e animais. Como os produtos da cadeia do frango e do ovo são os principais carreadores de *Salmonella*, o controle desse patógeno é extremamente importante devido ao seu impacto em saúde pública e porque alguns sorotipos causam irreparáveis perdas na produção. Devido a emergência da resistência aos antimicrobianos faz-se necessário a busca por métodos alternativos de controle da *Salmonella*. Assim o objetivo desse trabalho foi avaliar a capacidade inibitória de cepas probióticas isoladas ou em *blend* sobre *Salmonella* Heidelberg (SH). O teste foi feito em três isolados de SH oriundos de frango de corte. As seguintes bactérias probióticas foram avaliadas isoladamente: *Enterococcus faecium* (IMEVE ®), *Bifidobacterium bifidum* (IMEVE ®), *Bacillus cereus* var. *toyoi* (IMEVE ®), *Bacillus subtilis* (IMEVE ®), *Bacillus licheniformis* (IMEVE ®), *Lactobacillus acidophilus* (IMEVE ®). Além disso, foi testada a interação entre elas sendo o *blend* 1 composto por *L. acidophilus*, *E. faecium* e *B. bifidum*, e o *blend* 2 composto por *B. cereus* var. *toyoi*, *B. subtilis*, *B. licheniformis*. Paralelamente, foi testado um controle negativo (sem bactéria), um controle positivo (apenas a bactéria probiótica), um controle com a bactéria patogênica e um disco de enrofloxacina. As diferentes cepas probióticas isoladamente não apresentaram efeitos sobre nenhuma SH testada. O *blend* 1 apresentou um efeito de inibição muito forte e o *blend* 2 uma inibição moderada sobre três isolados de SH. A interação das bactérias ácido lácticas ou bactérias do gênero *Bacillus*, resulta em um sinergismo capaz de inibir SH comparado à cada bactéria probiótica isoladamente.

Palavras-chave: Salmonelose, saúde pública, antibióticos, avicultura

ABSTRACT

Salmonellosis is an important disease that affects humans and animals. As products from the chicken and egg chain are the main carriers of *Salmonella*, control of this pathogen is extremely important due to public health and because some serotypes cause irreparable losses in production. Due to the emergence of resistance to antimicrobials, it is necessary to search for alternative methods of controlling *Salmonella*. Therefore, this work aimed to evaluate the inhibitory capacity of isolated or blended probiotic strains on *Salmonella* Heidelberg (SH). The test was carried out on three SH isolates from broiler chickens. The following probiotic bacteria were evaluated: *Enterococcus faecium* (IMEVE ®), *Bifidobacterium bifidum* (IMEVE ®), *Bacillus cereus* var. *toyoi* (IMEVE ®), *Bacillus subtilis* (IMEVE ®), *Bacillus licheniformis* (IMEVE ®), *Lactobacillus acidophilus* (IMEVE ®). Furthermore, the interaction between them was tested, with *blend 1* composed of *L. acidophilus*, *E. faecium*, and *B. bifidum*, and *blend 2* composed of *B. cereus* var. *toyoi*, *B. subtilis*, and *B. licheniformis*. In parallel, a negative control (without bacteria), a positive control (only the probiotic bacteria), and a control with the pathogenic bacteria and an enrofloxacin disc were tested. The different probiotic strains alone did not show effects on any SH tested. *Blend 1* showed a very strong inhibition effect and *blend 2* a moderate inhibition on three SH isolates. The interaction of lactic acid bacteria or bacteria of the *Bacillus* genus results in a synergism capable of inhibiting SH compared to each probiotic bacteria alone.

Keywords: Salmonellosis, public health, antibiotics, poultry farming

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	8
MATERIAL E MÉTODOS.....	9
RESULTADOS	10
DISCUSSÃO	12
CONCLUSÃO.....	14
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	15

INTRODUÇÃO

Um dos agentes mais comuns em Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) é a *Salmonella enterica* (Majowicz, 2014) sendo as aves um importante reservatório. Estudos de Voss-Rech *et al.* (2015; 2019) reportam a presença de *S. enterica* em frangos importados do Brasil, maior exportador de carne de frango do mundo com um volume de 4.822 milhões de toneladas exportadas em 2022 segundo Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA, 2023). As aves têm capacidade de carrear *Salmonella* spp. para dentro da indústria, principalmente por meio das fezes, podendo contaminar dependências e equipamentos do abatedouro e conseqüentemente interferir na qualidade de subprodutos e produtos finais (Cortez, 2006).

Salmonella enterica – sorovares Heidelberg (SH) e Minnesota (SM) são predominantes em frangos do Brasil (Alikhan, 2022). Em estudo de caracterização molecular da SH feito por Melo *et al.* (2021) destacou-se a presença de elementos genéticos móveis que codificam resistência à penicilina, ceftriaxona, cefoxitina e meropenem, além da resistência a medicamentos não lactâmicos, que incluem a tetraciclina, sulfametoxazol e colistina. Devido à potencial transmissão aos seres humanos, estes resultados aumentam a preocupação em relação a resistência a antimicrobianos. Esses dados mostram que devido a importância zoonótica e os problemas de saúde pública causados pela *Salmonella*, seu controle é mandatório. No entanto, frente a emergência da resistência aos antimicrobianos, é preciso a SH ser controlada com métodos alternativos aos antibióticos.

Os probióticos são opções alternativas ao uso de antimicrobianos, definidos segundo a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) e a Organização Mundial de Saúde (OMS) como “microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro” (FAO, 2016). O uso de probióticos vem sendo uma opção adequada após restrições aos antibióticos como promotores de crescimento na indústria pecuária por muitos países (Alagawany, 2018). Alguns microrganismos podem se ligar à célula hospedeira no mesmo sítio de ligação dos patógenos promovendo a exclusão competitiva desses patógenos (Monteagudo-Mera, 2019). Além disso, os probióticos modulam a

microbiota intestinal, aumentam ácidos graxos de cadeia curta e promovem a imunomodulação (Chang, 2019).

Apesar do progresso no uso dos probióticos, ainda é necessário maior incentivo para sua utilização como forma viável de controlar patógenos preventivamente. Devido a dinâmica da mudança dos microrganismos patogênicos e a característica cepa dependente dos probióticos, os trabalhos de pesquisa, para compreender a ação dos microrganismos probióticos e sua interação com os patógenos, devem ser constantes. Assim, esse trabalho vem a contribuir com o melhor entendimento *in vitro* da interação de algumas cepas probióticas, isoladas ou em associação (*blends*), sobre o crescimento de SH, uma bactéria de difícil controle e de alta prevalência no Brasil. Portanto, o objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos (pela metodologia do halo de inibição em gota) de diferentes espécies probióticas isoladas ou em *blend* sobre SH.

MATERIAL E MÉTODOS

Os testes foram realizados no Laboratório de Doenças Infectocontagiosas da Universidade Federal de Uberlândia (LADOC-UFU) com três cepas de SH isoladas de granja em lotes de frangos de corte. As seguintes bactérias probióticas foram avaliadas: *Enterococcus faecium* (IMEVE®), *Bifidobacterium bifidum* (IMEVE®), *Bacillus cereus var. toyoi* (IMEVE®), *Bacillus subtilis* (IMEVE®), *Bacillus licheniformis* (IMEVE®), *Lactobacillus acidophilus* (IMEVE®). Além disso, foi testada a interação entre elas sendo o *blend* 1 contendo *L. acidophilus*, *E. faecium* e *B. bifidum*, e o *blend* 2 contendo *B. cereus var. toyoi*, *B. subtilis*, *B. licheniformis*. Paralelamente, foi testado um controle negativo (sem bactéria) contendo apenas o meio de cultivo, um controle positivo (somente com a bactéria probiótica) e um controle com a bactéria patogênica e um disco de enrofloxacina.

O protocolo experimental seguiu a partir do crescimento das bactérias probióticas e da bactéria patogênica em meio de cultivo ágar MRS e nutriente, respectivamente, à 37° em estufa microbiológica por 24h. Algumas cepas probióticas apresentavam condições de cultivo distintas, sendo o *B. bifidum* a única cepa com crescimento em anaerobiose por 48h. Para os *Bacillus* spp. o cultivo foi feito a 36°C com agitação. Os *blend* 1 e 2 liofilizados foram diluídos

em caldo BHI e colocados para crescimento em condições de temperatura à 36°C por 24h em microaerofilia (*blend 1*) ou aerobiose (*blend 2*).

Após o crescimento das bactérias probióticas e dos *blends* foi realizada a técnica de *spot* por meio de inoculação no centro da placa, contendo meio de cultivo MRS, de 3µL das bactérias probióticas e dos *blends* diluídos em salina à 10⁸ UFC/mL correspondendo a escala 0,5 de MacFarland, seguido de incubação à 36°C por 24h em microaerofilia (*blend 1*) ou aerobiose (*blend 2*).

Após o crescimento do *spot* foi realizada a inativação de esporos com vapor de 1,5mL de clorofórmio por 1 hora em fluxo laminar, seguido de exaustão por 1 hora em fluxo laminar. Após o crescimento em placa, a SH foi diluída em salina a 10⁸ UFC/mL em escala 0,5 de MacFarland e foi inserido 10µL em 10mL de ágar nutriente ainda líquido para adicionar sobre a placa contendo o *spot*. As placas foram incubadas à 36°C por 24h em aerobiose para posterior leitura dos halos formados.

Os testes para cada cepa e cada *blend* foram realizados em duplicatas. O nível de inibição foi avaliado de acordo com o diâmetro do halo (Coelho-Rocha *et al.*, 2022) e cada cepa ou produto foi classificada da seguinte forma: Muito forte inibição: halo acima de 2 cm de diâmetro. Forte inibição: 1,5 – 1,9 cm. Moderada inibição: 1,1 - 1,4 cm. Fraca inibição: 0,9 - 1,0 cm. Sem inibição: Menor que 0,9cm.

RESULTADOS

As diferentes cepas isoladamente não apresentaram efeitos sobre nenhuma SH testada (Tabela 1). O *blend 1* apresentou um efeito de inibição muito forte (figura 1) e o *blend 2* (figura 2) uma inibição moderada sobre os três isolados de SH (Tabela 1).

Tabela 1. Halo de inibição (cm) de diferentes cepas probióticas sobre três isolados de *Salmonella* Heidelberg (SH) provenientes de amostras de granja em lotes de frangos de corte

	SH1	SH2	SH3	Média (+/- DP)
<i>Enterococcus faecium</i>	0	0	0	0,00 (+/-0,00)

<i>Bifidobacterium bifidum</i>	0	0	0	0,00 (+/-0,00)
<i>Bacillus cereus var. toyoi</i>	0,82	0	0	0,27 (+/-0,36)
<i>Bacillus subtilis</i>	0,72	0	0	0,24 (+/-0,32)
<i>Bacillus Licheniformis</i>	0	0	0	0,00 (+/-0,00)
<i>L. acidophilus</i>	0	0	0	0,00 (+/-0,00)
<i>Blend 1</i>	3,85	3,65	3,85	3,78 (+/-0,089)
<i>Blend 2</i>	1,43	0,83	1,93	1,39 (+/-0,37)
ENRO	2,90	2,00	2,20	

Muito forte inibição: halo acima de 2 cm de diâmetro. Forte inibição: 1,5 – 1,9 cm. Moderada inibição: 1,1 - 1,4 cm. Fraca inibição: 0,9 - 1,0 cm. Sem inibição: Menor que 0,9cm (Coelho-Rocha et al. 2022). SH: *Salmonella* Heidelberg ENRO: Teste com antibiótico enrofloxacina usado como controle positivo. O isolado de SH1 foi sensível a enrofloxacina e os isolados de SH2 e SH3 foram intermediários (moderadamente resistentes) de acordo com os valores de referência do Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais (CLSI).

Figura 1. Spots do *blend 1* com halo de inibição sobre cepa de SH1.

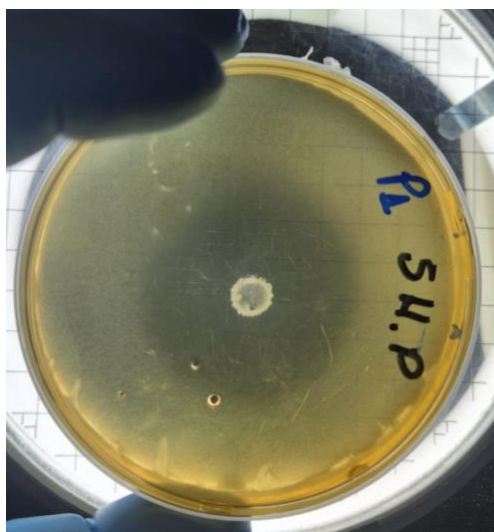
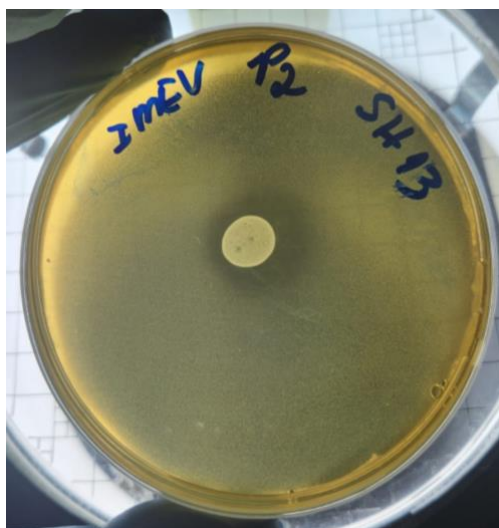


Figura 2. Spots do *blend 2* com halo de inibição sobre cepa de SH3.



DISCUSSÃO

Há vários estudos que mostram que probióticos como *Lactobacillus* spp. e *Bacillus* tem a capacidade de reduzir lesões causadas por *Salmonella* e até mesmo o número de *Salmonella* em órgãos-alvo e intestino (Neveling, 2020; Chang, 2019; Mazkour, 2020).

Embora nesse trabalho, isoladamente, nenhuma cepa probiótico inibiu SH, outro trabalho observou diminuição no número de células de *Salmonella* Pullorum M97 em frangos que receberam *E. faecium* J96 (Audisio, 2000). *B. subtilis* e *B. coagulans* como probióticos, quando utilizados como medida preventiva contra a infecção por *Salmonella* Typhimurium, apresentam benefícios que retornam parâmetros alterados mais rápido ao normal, o número de glóbulos brancos (leucócitos) e neutrófilos no grupo que recebeu somente *Salmonella* foi significativamente maior do que os outros grupos desde o primeiro dia após a gavagem. A contagem de leucócitos e neutrófilos aumentou durante três dias de infecção e começou a diminuir a partir do dia 5. O uso de probióticos antes da gavagem de *Salmonella*, reduziu a tendência crescente dos níveis de leucócitos e neutrófilos e eventualmente elevou os níveis destes dois indicadores para a faixa normal no dia 5. Além disso, eles competem com o patógeno no intestino por nutrientes e receptores de adesão. (Mazkour, 2020). Vila *et al.* (2009) mostraram que *B. cereus* var. *toyoi* diminui a colonização e invasão de *S. Enteritidis* em frangos de corte.

Diferente do resultado das cepas isoladas, os *blends* levaram a uma inibição da SH moderada ou muito forte, sendo que o *blend* 1, composto por bactérias ácido lácticas, apresentou um resultado superior aquele composto por bactérias do gênero *Bacillus*. Cazzola (2010) em estudo que inclui *B. bifidum* avaliou os efeitos de probióticos de cepa única de *L. helveticus* R0052, *B. longum* subsp. *infantis* R0033 e *B. bifidum* R0071 e a preparação de múltiplas cepas. Todos os três isolados revelaram que as múltiplas cepas influenciaram sinergicamente as respostas de T-helper tipo 1 (TH1) e T-helper tipo 2 (TH2) em modelos de ratos Wistar infectados com *Escherichia coli* enterotoxigênica (ETEC) e *Nippostrongylus brasiliensis*, respectivamente.

Neveling *et al.* (2020) utilizaram uma composição multi-espécie com cepas de *Lactobacillus* (*L. crispatus*, *L. salivarius*, *L. gallinarum*, *L. johnsonii*), *Enterococcus faecalis* e *Bacillus amyloliquefaciens* que estimularam a resposta imunológica de frangos de corte infectados com *Salmonella* Enteritidis A9, com níveis mais elevados de lisozima no soro e respostas mais altas de linfócitos T em comparação com as aves controle, sem afetar negativamente o desempenho de crescimento tanto dos animais tratados com oxitetraciclina e os que receberam as cepas probióticas.

Pringsulaka (2015) testou cepas de bactérias ácido lácticas isoladas de amostras fecais e obteve resultados positivos das capacidades antimicrobianas *in vitro*. Para o teste foram coletadas 150 amostras fecais de animais, como vacas, porcos, galinhas e patos, foi avaliada a atividade antimicrobiana de isolados de bactérias ácido lácticas contra bactérias patogênicas. De 81 isolados de cepas probióticas, 61, 59, 43, 78 e 79 isolados apresentaram atividade antimicrobiana contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp., *Shigella* sp. e *Klebsiella* sp., respectivamente.

A combinação de diferentes espécies e cepas podem oferecer possíveis efeitos complementares, aditivos e sinérgicos no intestino, devido a genes de superfície são capazes de colonizar, interagir e sinalizar o hospedeiro. Em estudo de Douillard (2018) foram encontrados genes que codificam estes componentes de superfície no produto multi-espécie. Dois tipos principais de pili podem ser encontrados em LAB e bifidobactérias: o pili Tad (também chamado de pili de forte aderência, tipo IVb) e o pili dependente de sortase. Em bactérias patogênicas, os pili de forte aderência são fundamentais na adesão, colonização

e também na patogênese. Em cepas de *B. breve* BB02, *B. animalis* subsp. *lactis* BL03 e BI04 utilizadas na composição do produto multi-espécie, foram encontrados agrupamentos de genes que codificam o Tad pili.

Em estudo de Chang (2019) encontrou-se resultados positivos para a criação de frangos com redução da *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* na microbiota cecal, com a administração de probióticos multi-cepas ácido lácticas (compreendendo *L. acidophilus* LAP5, *L. fermentum* P2, *P. acidophilus* LS e *L. casei* L21) a pintinhos livres de patógenos específicos (SPF). Além disso, o grupo que recebeu apenas *Salmonella* apresentou maior abundância de proteobactérias que o grupo tratado com probióticos multi-cepas, o qual apresentou diminuição da abundância de proteobactérias das quais *Salmonella* é membro.

Chapman *et al.* (2012) demonstraram que 5 preparações probióticas multiespécies tiveram inibições significativamente maiores em 12 dos 24 casos contra *C. difficile*, *E. coli* e *S. Typhimurium*, do que 15 probióticos de espécie única.

Cada cepa probiótica parece ter um desempenho diferente e a literatura mostra os benefícios das bactérias ácido lácticas no controle da *Salmonella*. Esse trabalho mostra que os *Bacillus* em associação também podem conferir um efeito protetor na inibição da SH mesmo que moderado. Embora com efeito menor comparado às bactérias ácido lácticas, as bactérias do gênero *Bacillus* apresentam vantagens como maior resistência no ambiente. Assim, tanto o uso de bactérias ácidas ou *Bacillus* associados podem promover um controle da SH sendo excelente alternativa ao uso dos antimicrobianos.

CONCLUSÃO

O presente trabalho mostrou *in vitro* uma maior eficácia com o uso de várias cepas em *blend* composto por bactérias ácido lácticas (*blend* 1) ou do gênero *Bacillus* (*blend* 2) comparadas às cepas isoladas mostrando o efeito sinérgico de cepas probióticas. O *blend* 1 apresentou maior eficácia em relação ao *blend* 2.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALAGAWANY, M. et al. The use of probiotics as eco-friendly alternatives for antibiotics in poultry nutrition. **Environmental Science and Pollution Research**, Epub v. 25, n.11 p. 10611-10618, mar. 2018.

ALIKHAN, N. F. et al. Dynamics of Salmonella enterica and antimicrobial resistance in the Brazilian poultry industry and global impacts on public health. **PLoS Genetics**, v. 18, n. 6, e1010174, jun. 2022. DOI: 10.1371/journal.pgen.1010174

AUDISIO M. C.; OLIVER, G.; APELLA, M. C. Protective effect of Enterococcus faecium J96, a potential probiotic strain, on chicks infected with Salmonella Pullorum. **Journal of Food Protection**, v. 63 n. 10, p. 1333–1337, abr. 2000.

CAZZOLA, M.; TOMPKINS, T.A.; MATERA, M.G. Immunomodulatory impact of a synbiotic in Th1 and Th2 models of infection. **Therapeutic Advances in Respiratory Disease**, v. 4, n. 5, p. 259–270, 2010.

CHAPMAN C. M.; GIBSON, G. R.; ROWLAND, I. In vitro evaluation of single- and multi-strain probiotics: Inter-species inhibition between probiotic strains, and inhibition of pathogens. **Anaerobe**, v. 18, n. 4, p. 405-413, 2012.

COELHO-ROCHA, N. D. et al. Evaluation of Probiotic Properties of Novel Brazilian Lactiplantibacillus plantarum Strains. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, v. 15, p. 1160-174, fev. 2023.

CORTEZ, A. L. L. et al. Resistência antimicrobiana de cepas de Salmonella spp. isoladas de abatedouros de aves. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.73, n.2, p.157-163, abr./jun., 2006

DOUILLARD, F.P. *et al.* Comparative genomic analysis of the multispecies probiotic marketed product VSL# 3. **PLoS ONE**, v. 13, n. 2, e0192452, feb. 2018.

FAO. 2016. *Probiotics in animal nutrition – Production, impact and regulation* by YADAV S. BAJAGAI, ATHOL V. KLIEVE, PETER J. DART AND WAYNE L. BRYDEN. Editor Harinder P.S. Makkar. FAO Animal Production and Health Paper No. 179. Rome.

GUEIMONDE, M.; JALONEN, L.; H. E., F.; HIRAMATSU, M.; SALMINEN, S. Adhesion and competitive inhibition and displacement of human enteropathogens by selected lactobacilli. **Food Research International**, v. 39, n. 4, p. 467–471, mai. 2006.

MAJOWICZ, S. E. *et al.* Global incidence of human Shiga toxin–producing *Escherichia coli* infections and deaths: A systematic review and knowledge synthesis. **Foodborne Pathogens and Disease**, v.11, n. 6, p. 447–455, jun. 2014.

MAZKOUR, S. *et al.* Effects of two probiotic spores of *Bacillus* species on hematological, biochemical, and inflammatory parameters in *Salmonella* Typhimurium infected rats. **Scientific Reports**, v. 10, n. 8035, mai. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64559-3>

MELO, R. T. *et al.* Molecular Characterization and Survive Abilities of *Salmonella* Heidelberg Strains of Poultry Origin in Brazil. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, e674147, 2021. DOI: 10.3389/fmicb.2021.674147

MONTEAGUDO-MERA, A. *et al.* Adhesion mechanisms mediated by probiotics and prebiotics and their potential impact on human health. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 103, p. 6463–6472, jul. 2019.

NEVELING, D.P. *et al.* Effect of a Multi-Species Probiotic on the Colonisation of *Salmonella* in Broilers. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, v. 12, p 896-905, nov. 2020.

OAK, S.J.; JHA, R. The effects of probiotics in lactose intolerance: A systematic review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 59, n. 11, 2019, p. 1675–1683, fev. 2018.

PRINGSULAKA, O. *et al.* In vitro screening of lactic acid bacteria for multi-strain probiotics. **Livestock Science**, v. 174, p. 66-73, jan. 2015.

VILA, B. *et al.* 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, jan. 2009.

VOSS-RECH D. *et al.* A temporal study of Salmonella enterica serotypes from broiler farms in Brazil. **Poultry Science**, v. 94, n. 3, mar. 2015.

VOSS-RECH D. *et al.* Longitudinal study reveals persistent environmental Salmonella Heidelberg in Brazilian broiler farms. **Veterinary Microbiology**, v. 23, p. 118-123, jun. 2019.