

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DEFESA AGROPECUÁRIA

RAFAELA DA SILVA LOUREIRO

**PADRONIZAÇÃO DO TESTE ELISA INDIRETO PARA O DIAGNÓSTICO
DA SALMONELOSE AVIÁRIA EM ABATEDOURO FRIGORÍFICO NO
RECÔNCAVO DA BAHIA**

Cruz das Almas-Bahia

2023.1

RAFAELA DA SILVA LOUREIRO

**PADRONIZAÇÃO DO TESTE ELISA INDIRETO PARA O DIAGNÓSTICO
DA SALMONELOSE AVIÁRIA EM ABATEDOURO FRIGORÍFICO NO
RECÔNCAVO DA BAHIA**

Dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação do curso de Mestrado Profissional em Defesa Agropecuária do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Defesa Agropecuária.

Orientador: Prof. Dr. Robson Bahia Cerqueira

Cruz das Almas-Bahia

2023.1

FICHA CATALOGRÁFICA

L892p

Loureiro, Rafaela da Silva.

Padronização do teste elisa indireto para o diagnóstico da salmonelose aviária em abatedouro frigorífico no Recôncavo da Bahia / Rafaela da Silva Loureiro. _ Cruz das Almas, BA, 2023. 61f.; il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Mestrado Profissional em Defesa Agropecuária.

Orientador: Prof. Dr. Robson Bahia Cerqueira.

1.Frango de corte – Salmonelose – Controle. 2.Frango de corte – Teste imunoenzimático. 3.Indústria avícola – Análise. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.

CDD: 636.085

RAFAELA DA SILVA LOUREIRO

**PADRONIZAÇÃO DO TESTE ELISA INDIRETO PARA O DIAGNÓSTICO
DA SALMONULOSE AVIÁRIA EM ABATEDOURO FRIGORÍFICO NO
RECÔNCAVO DA BAHIA**

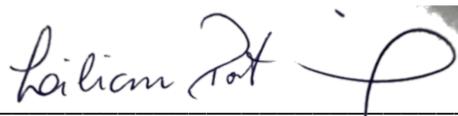
Cruz das Almas-Ba, 06 de Junho de 2023.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Robson Cerqueira Bahia
Orientador
UFRB



Prof. Ana Karina da Silva Cavalcante
Membro interno
UFRB



Prof. Lilian Porto de Oliveira
Membro externo
UFRB

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Deus. Ele que sempre escutou o meu clamor e mostrou o melhor caminho a seguir para que conquistasse meus objetivos.

A minha amada e linda filha, Melissa Loureiro Cardoso. Com seu coração maravilhoso, sempre esteve ao meu lado sendo paciente me apoiando, incentivando e cuidando para que eu tivesse a tranquilidade e serenidade para obter este Título. AMO VOCÊ FILHA!

Agradeço também, a minha eterna e saudosa filha de quatro patas, Bugada, que encheu minha vida de alegria e amor incondicional, contudo acabou partindo no meio desta minha grande jornada. E tenho a certeza de que está torcendo por mim lá de cima. AMO VOCÊ PARA SEMPRE FILHA!

Ao meu eterno professor e orientador, Robson Bahia Cerqueira, que sempre me acompanhou, apoiando e incentivando a buscar o meu Título de Mestre. E assim estamos aqui, concluindo mais uma etapa.

Professora Ana Karina, pessoa iluminada, que me estendeu a mão e mostrou que sim, eu era capaz e iria conseguir. A você pró, minha eterna gratidão.

Aos meus pais, apesar de não estarem próximos, Rita de Cássia e Osvaldo Loureiro, torceram e acreditaram em mim. Agradecer também família do coração, que conquistei, Fatima Cardoso, Rodrigo Cardoso e Raísa Cardoso, que sempre me apoiaram e torceram pelo meu crescimento e minha vitória.

Ao meu grande amigo Márdio Moreira, que sempre acreditou que poderia fazer o que eu quisesse, pois era capaz e guerreira. Amigo que não media esforços, dando suporte sempre que necessário, para que conseguisse concluir este trabalho. A você meu muito obrigada!

Ao colega Médico Veterinário Bruno Passos Fernandes, que contribuiu de forma significativa e substancial para conclusão do meu trabalho.

LOUREIRO, Rafaela da Silva Padronização do teste ELISA indireto para o diagnóstico da Salmonelose Aviária em Abatedouro Frigorífico no Recôncavo da Bahia.

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2023.

Orientador: Prof. Dr. Robson Bahia Cerqueira.

RESUMO

As salmoneloses aviárias são enfermidades provocadas por bactérias do gênero *Salmonella spp.*, cujo agente é o principal causador de toxinfecção em humanos, tornando-se assim um grande problema de saúde pública. O objetivo deste trabalho foi padronizar o teste ELISA indireto para o diagnóstico da salmonelose aviária em aves de produção abatidos em um abatedouro frigorífico no Recôncavo da Bahia. A sua metodologia baseou-se na busca para detecção de anticorpos anti-salmonela através do método diagnóstico Elisa Indireto em 80 amostras de sangue coletadas no período de novembro de 2022, de frangos de cortes, sendo destas amostras citadas, 40 de aves com sintomatologia clínica e 40 de aves saudáveis. Obtendo como resultado da sensibilidade e especificidade de 100% e 92,8% respectivamente. Esse achado caracteriza o teste padronizado com eficiente desempenho para ser utilizado como técnica de diagnóstico da doença. Conclui-se que o teste ELISA indireto é importante na rotina das doenças infecciosas, por oferecer um auxílio como ferramenta diagnóstica. Realizou-se também, para reforçar o achado do agente em linha de inspeção, a comparação do diagnóstico anatomopatológico e bacteriológico. Onde foram coletadas 50 amostras de vísceras de frango condenadas (25 de fígado e 25 de coração) sugestivas da doença para pesquisa do agente. Obtendo como resultado o isolamento do microorganismo em 100% (25/25) das amostras de fígado e 92% (23/25) nas de coração. Confirmando assim, a presença da bactéria no plantel, em estudo, na região no Recôncavo da Bahia.

Palavras-chave: Salmonelose, imunodiagnóstico, aves.

LOUREIRO, Rafaela da Silva **Standardization of the indirect ELISA test for the diagnosis in a slaughterhouse in the Recôncavo of Bahia.**

Federal University of Recôncavo da Bahia, 2023.

Advisor: Prof. Doctor Robson Bahia Cerqueira.

ABSTRACT

Avian salmonellosis are diseases caused by bacteria of the genus *Salmonella spp.*, whose agent is the main cause of toxoinfection in humans, thus becoming a major public health problem. The objective of this work was to standardize the indirect ELISA test for the diagnosis of avian salmonellosis in poultry slaughtered in a slaughterhouse in Recôncavo da Bahia. Its methodology was based on the search for detection of anti-salmonella antibodies through the Indirect Elisa diagnostic method in 80 blood samples collected in the period of November 2022, from broilers, of which 40 samples were cited from birds with clinical symptoms. and 40 from healthy birds. Obtaining as a result the sensitivity and specificity of 100% and 92.8% respectively. This finding characterizes the standardized test with efficient performance to be used as a diagnostic technique for the disease. It is concluded that the indirect ELISA test is important in the routine of infectious diseases, as it offers assistance as a diagnostic tool. To reinforce the finding of the agent in the inspection line, a comparison of the anatomopathological and bacteriological diagnosis was also carried out. Where 50 samples of condemned chicken viscera were collected (25 from liver and 25 from heart) suggestive of the disease for research of the agent. Obtaining as a result the isolation of the microorganism in 100% (25/25) of liver samples and 92% (23/25) of heart samples. Thus, confirming the presence of the bacteria in the herd under study in the Recôncavo da Bahia region.

Key words: Salmonellosis, immunodiagnosis, birds

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 - Imunidade inata e adaptativa	19
Figura 2 - Alterações macroscópicas em galinhas de postura de 77 semanas infectadas por <i>Salmonella gallinarum</i>	24
Figura 3 - Nódulos de tamanhos variados sobre a serosa e mesentério do intestino grosso e delgado	25
Figura 4 - Folículos atrofiados apresentando contorno irregular	26
Figura 5 - Microplaca transparente de poliestereno com 96 poços	28
Figura 6 - Tipos de ELISA	29
Figura 7 - Exemplificação do ELISA indireto	30
Figura 8 - Coleta de amostras de sangue das aves na área de sangria.	36
Figura 9 - Lesões macroscópicas em vísceras condenadas pela Inspeção Estadual....	41

LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS

	Página
Tabela 1 - Representação do cálculo da sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivos e negativos e acurácia	40
Tabela 2 - Resultado do ponto de corte	44
Gráfico 1 - Amostras negativas para <i>Salmonella spp.</i>	45
Gráfico 2 - Amostras positivas para <i>Salmonella spp.</i>	46

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETVO	13
2.1 OBJETIVO GERAL.....	13
2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO	13
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	14
3.1 CARACTERÍSTICAS DO AGENTE ETIOLÓGICO.....	14
3.2 RESERVATÓRIO E TRANSMISSÃO.....	15
3.2.1 Reservatório	15
3.2.2 Transmissão	16
3.3 EPIDEMIOLOGIA	17
3.4 RESPOSTA IMUNE.....	18
3.5 PATOGENIA.....	20
3.6 SINAIS CLÍNICOS.....	21
3.6.1 Pulorose	21
3.6.2 Tifo aviário	22
3.6.3 Paratifo aviário e humano.....	22
3.7 DIAGNÓSTICO	23
3.7.1 Clínico.....	23
3.7.2 Anatomopatológico	24
3.7.3 Laboratorial.....	26
3.8 TRATAMENTO.....	31
3.9 MEDIDAS DE CONTROLE E PROFILAXIA	32
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	34
4.1 QUESTÕES ÉTICAS.....	34
4.2 COLETA DAS AMOSTRAS.....	34
4.3 LOCAL DE ESTUDO DAS AMOSTRAS.....	36
4.4 PRODUÇÃO DO ANTIGENO.....	37
4.5 PROTOCOLO DO ELISA indireto	39

4.6	ESTUDO DO PONTO DE CORTE, SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE	40
4.7	ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DA SALMONELLA SPP.....	40
5	RESULTADOS.....	43
6	DISCUSSÃO	47
7	CONCLUSÃO	50
	REFERÊNCIAS.....	52

1 INTRODUÇÃO

A produção brasileira de frangos de corte tem sido uma das atividades agropecuárias que mais se desenvolveu nas últimas décadas, de forma que estratégias para uma produção mais eficiente estão sendo buscadas cada vez mais (ASSUNÇÃO et al., 2019). Atualmente, essa cadeia de produção, apresenta-se como o segundo maior produtor mundial e o primeiro em exportações (BARROS et al., 2020).

De acordo com Portela et al. (2019), infecções e mortes têm sido associadas à ingestão de patógenos potenciais. E no cenário da avicultura mundial, a *Salmonella spp.* é um dos mais importantes patógenos associados à carne de frango e seus derivados (ISOLAN et al. 2019). É uma das zoonoses mais complexas que afetam a saúde pública mundial (MELO et al. 2020).

A salmonelose aviária é um termo usado para se referir aos três tipos diferentes de doenças bacterianas causadas pelo gênero *Salmonella spp.* (pulorose, tifo aviário e paratifo aviário) nas aves domésticas, onde a pulorose tem sua etiologia relacionada à *Salmonella pullorum*, o tifo aviário à *Salmonella gallinarum* e o paratifo aviário a todos os demais sorotipos patogênicos entéricos (STELLA et al. 2021).

Esta enfermidade pode atingir aves de todas as idades, são causas comuns de epidemias e estão distribuídas mundialmente. Aves portadoras de salmonelas são as principais fontes de infecção, sendo transmitida de forma vertical e horizontal (ZANIELLI et al. 2018). O diagnóstico presuntivo é realizado de acordo com os sinais clínicos, sendo o padrão ouro a cultura bacteriana com a identificação do agente etiológico e a utilização da sorologia Elisa no diagnóstico tem se tornado alvo de interesse como ferramenta auxiliar no controle da enfermidade (RIBAS et al., 2018).

Contudo, a relevância dessa revisão de literatura é conhecer a dinâmica comportamental do microorganismo causador das Salmoneloses aviárias, destacando o seu diagnóstico rápido através da padronização do teste Elisa Indireto, para que medidas de controle e prevenção sejam tomadas com o intuito evitar disseminação da bactéria

entre as aves, reduzindo as perdas econômicas e evitando a propagação das Doenças Transmitidas por Alimentos, reduzindo assim as doenças que afetam a saúde pública.

2 OBJETVO

2.1 OBJETIVO GERAL

Padronizar do teste ELISA Indireto para o diagnóstico da Salmonelose Aviária em amostras de soro de frangos de corte coletadas em Abatedouro Frigorífico do Recôncavo da Bahia.

2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

- Padronizar o teste ELISA Indireto para o diagnóstico da Salmonelose Aviária em aves de produção.
- Isolar e identificar a *Salmonella spp.* em amostras de vísceras de frangos coletadas de abatedouros frigoríficos.
- Estudar a eficácia do teste padronizado através da sensibilidade, especificidade e ponto de corte.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 CARACTERÍSTICAS DO AGENTE ETIOLÓGICO

A Salmonelose Aviária é um termo usado para se referir aos três tipos diferentes de doenças bacterianas causadas pelo gênero *Salmonella spp.* (pulorose, tifo aviário e paratifo aviário) nas aves domésticas (STELLA et al., 2021).

A bactéria Salmonela recebeu este nome em homenagem a Daniel Elmer Salmon, bacteriologista veterinário que, junto com Theobald Smith, isolaram e descreveram, pela primeira vez, o que chamavam de bacilo da peste suína, em 1885 (BARROS et al, 2020).

Dentre os sorotipos existentes de salmonelas, alguns podem se disseminar e provocar graves infecções zoonóticas pelas aves domésticas (RAPOSO et al., 2019). E alguns sorotipos, conhecidos como paratípicos, podem não causar doença clínica em aves (CARNEIRO et al., 2020).

São espécies de bactérias pertencentes à família Enterobacteriaceae consideradas parte da microbiota autóctone intestinal de muitos mamíferos, incluídos os seres humanos e algumas espécies de aves (LOPES et al., 2016). Podendo sobreviver por semanas em ambiente seco e por meses na água (SANDVIK et al., 2020).

As Salmonelas podem ser encontradas em duas formas: uma delas é virulenta e conhecida como forma “lisa” e a outra é “rugosa”, onde sua diferenciação se faz por análise das características macroscópicas de suas colônias, respectivamente (MUNIZ, 2021).

Barros et al. (2020) mencionam que a caracterização dos sorovares ou sorotipos tem por base a descrição dos antígenos somáticos (O), flagelares (H) e de envoltório (Vi), sendo numericamente reconhecidos mais de 2.600, contudo este número aumenta progressivamente.

O MAPA (2022) relata que esta bactéria está caracterizada em um gênero de duas espécies: *Salmonella entérica* e *Salmonella bongori*, sendo a espécie *enterica* subdividida em seis subespécies sendo elas: *enterica*, *salamar*, *arizonae*, *diarizonae*, *hutnae* e *indica*.

A enterobacteriaceae, de acordo com Takano et al. (2021), podem ser móveis ou imóveis, no primeiro caso dotados de flagelos. É um bacilo Gram-negativo enteropatogênico em forma de bastonete flagelado que é considerado a principal causa de doença entérica em todo o mundo (MOHAMMED, 2024).

De acordo com Santos & Neves (2022), as *Salmonelas* são relativamente resistentes a vários fatores ambientais, onde sua adaptabilidade fisiológica é demonstrada por sua habilidade para proliferar em valores de pH entre 7,0 e 7,5 (extremos 3,8 e 9,5), temperatura de 35°C a 43°C (extremos 5°C a 46°C) e uma atividade de água > 0,94.

Ehuwa et al. (2021) afirmaram que a *Salmonella* é conhecida por sobreviver por longos períodos em produtos alimentícios de baixa umidade, tornando-se um problema com especiarias ervas que são utilizadas globalmente, pois podem viajar e quebrar barreiras geográficas.

De acordo com Silva et al. (2018), as *Salmonelas* não toleram grandes concentrações de sais, com isso, concentração de salmouras acima de 9% é considerada bactericida, o nitrito é inibitório e seu efeito é acentuado pelo pH ácido.

3.2 RESERVATÓRIO E TRANSMISSÃO

3.2.1 Reservatório

De acordo com Wei et al. (2020), as galinhas são hospedeiros naturais do agente etiológico. Os mamíferos domésticos e selvagens também podem ser acometidos, porém atuam mais como reservatórios da bactéria, servindo como fonte de infecção para as aves de produção Parvej et al. (2016).

As aves silvestres podem ser reservatórios de bactérias patogênicas, como a *Salmonella spp.* e atuar como veiculadoras desses microrganismos para o ambiente, os animais domésticos e o homem (DIAS et al. 2019).

Shi et al. (2020) mencionam que répteis e insetos vetores, também podem servir de fonte de infecção para as aves de produção. Como exemplo, o inseto *Alphitobius diaperinus* (cascudinho), muito comum nos aviários, que é um potencial reservatório da bactéria, e seu contato com a cama dos aviários, assim como o hábito deste se alimentar de aves moribundas e mortas, o faz um veiculador de diversos patógenos aviários (BOMFIM, 2015).

3.2.2 Transmissão

A transmissão ocorre tanto de forma vertical quanto horizontal em aves (DE CARLI et al. 2017). E em humanos, na maioria dos casos, a transmissão está associada ao consumo de alimentos ou água contaminados, tratamento de carne crua contaminada, contaminação cruzada e consumo de alimentos não cozidos contendo *Salmonella* (WANG et al. 2021).

Na forma vertical, Moraes et al. (2016) citam que sua disseminação no aviário pode ocorrer através do alojamento de pintos de um dia infectados. De acordo com Ferraz (2020), esses pintos podem ser infectados de dois modos: pelas excretas contaminadas, pois a *salmonella* coloniza o ceco e contamina a casca do ovo durante a postura, ou pela contaminação interno do ovo, uma vez que a *salmonella* pode ir do intestino para os ovários (transmissão transovariana).

Na transmissão horizontal, a via fecal-oral representa a principal via de transmissão e o desenvolvimento da doença está associado à eficiência bacteriana na invasão da mucosa intestinal, colonização dos tecidos linfoides e a evasão da resposta imune do hospedeiro (MOLOSSI; PAVARINI, 2021).

A dispersão via horizontal dentro do plantel pode ocorrer com o contato entre aves acometidas e aves não acometidas via fezes contaminadas ou até mesmo por comportamento canibal e ingestão de alimento contaminado, ou pela forma vertical, por matrizes que foram acometidas de forma branda e que por via transovariana transmitiram aos ovos que darão origem a pintos infectados (COSTA, 2020).

Quanto a sua transmissão ao homem, segundo Nascimento et al. (2019), pode ocorrer pelo contato direto com animais, tanto nas granjas quanto nos frigoríficos, mas ocorre principalmente através da ingestão de alimentos contaminados com o patógeno.

3.3 EPIDEMIOLOGIA

No Brasil os primeiros surtos da doença datam da década de 90. Nessa época o Brasil já importava material genético principalmente dos EUA onde era grave o problema de salmoneloses em aves e humanos (BRASIL, 2018).

De acordo com a Embrapa (2021), a cadeia produtiva de ovos e aves no Brasil é bastante diversificada e complexa. E com o crescimento da avicultura e seu papel como grande produtor e exportador global, apresenta a carne de frango como uma fonte de proteína, em potencial, mais consumida no mundo (TAVARES, 2022).

A infecção por *Salmonella spp.* é uma das epidemias mais importantes no mundo e representa uma grande ameaça à produção animal e a saúde pública (SHI et al. 2020). Embora os humanos possam ser infectados por esta bactéria através de uma ampla gama de produtos alimentícios, carne de aves e ovos estão entre as fontes mais frequentes implicadas em surtos de salmonelose humana (COELHO et al. 2021).

Santos et al. (2015) citam que infecções por este microrganismo estão associadas à criação intensiva e a surtos de salmonelose clínica, levando assim a contaminação para as indústrias, o que demonstra a importância de os estudos epidemiológicos irem para além das granjas, englobando todas as etapas da cadeia produtiva até o produto final.

O conhecimento dos sorotipos circulantes representa uma importante ferramenta epidemiológica em qualquer país (BAPTISTA et al. 2018). Tornando a sorotipificação necessária na identificação da *Salmonella*, permitindo assim, determinar a prevalência/emergência ou apontar tendências de um sorovar em distintas zonas geográficas, bem com identificar surtos, conhecer as fontes de infecção e vias de transmissão (CARDOSO; TESSARI 2015).

A Salmonelose Aviária é uma doença de distribuição mundial (LI et al. 2018). A transmissão vertical é um importante fator epidemiológico, pois a positividade de uma

granja reprodutora pode resultar em sua ampla disseminação (TALAMINI; MARTINS, 2022). No Brasil, apesar dos esforços de biossegurança, vários casos foram relatados nas últimas duas décadas (OIE, 2020).

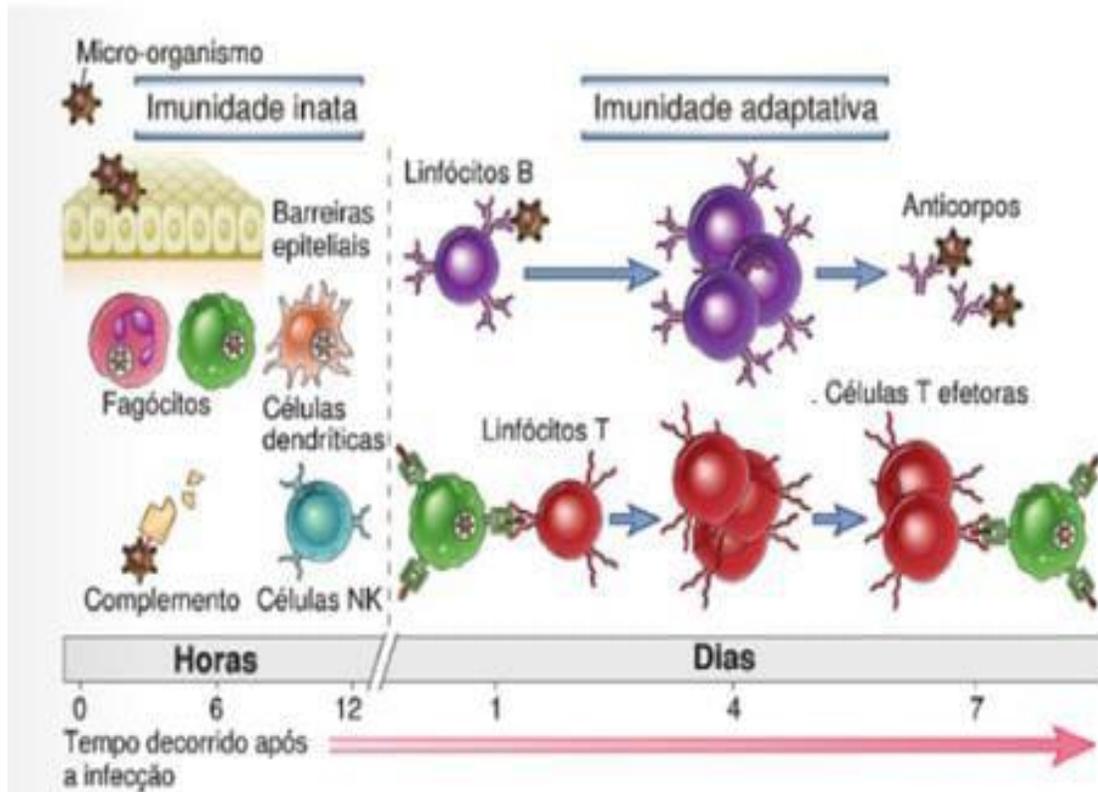
Anualmente aproximadamente 80,3 milhões de casos de doenças humanas transmitidas por alimentos em todo o mundo são causados por *Salmonella*, especialmente a *Salmonella enteritides* e *Salmonella typhimurium* que são um dos sorotipos mais prevalentes isolados de fontes humanas e não humanas (PAIVA et al. 2020; OKAN et al. 2021).

3.4 RESPOSTA IMUNE

O sistema imune de mucosa das aves ganha enorme notoriedade, pois é esse sistema que realiza a defesa do organismo do hospedeiro contra a invasão do patógeno e no caso específico da *Salmonella*, um gênero bacteriano da família das Enterobactérias, o trato gastrointestinal é a principal via de manutenção e invasão (MUNIZ, 2022).

O sistema imune inato das aves é ativado quando as células utilizam seus receptores de reconhecimento de padrões para detectar algum tipo de “anormalidade” causada por invasores ou danos teciduais. Outro mecanismo utilizado é a imunidade adaptativa, onde temos a ligação de antígenos a receptores específicos de células B e T que desencadeiam fortes respostas defensivas acionadas num segundo momento (Figura 1) (SALLES, 2021).

Figura 1 – Imunidade inata e adaptativa.



Fonte: SALLES (2021).

De acordo com Muniz (2021), dentro da ampla resposta imune contra esse gênero de bactérias podemos afirmar que o LPS da parede celular das Salmonelas constitui um importante antígeno com propriedade polimérica e epítomos repetidos com capacidade de ativar células B policlonais. Logo, são classificados como antígenos T-independentes e resultam em produção de anticorpos específicos.

O reconhecimento do LPS bacteriano por TLR4 faz com que essas células liberem citocinas e quimiocinas que servem como sinal inicial para o recrutamento de células fagocíticas (neutrófilos, células Natural Killer (NK), monócitos, macrófagos e células dendríticas). Normalmente, a infecção por Salmonella é controlada e eliminada após a geração de imunidade de células T e B específica para o patógeno. Além disso, esses tipos de respostas imunes são importantes para proteger o hospedeiro contra uma infecção secundária (SALLES 2023).

A capacidade dos sorovares de *Salmonella spp.* invadir o organismo da ave e resistir à ação do sistema imune é conferida por informações genéticas contidas no genoma desses microrganismos (FREITAS NETO, 2015).

3.5 PATOGENIA

Mohammed (2024) afirma que, melhora na produção avícola será alcançado por uma melhor compreensão do mecanismo molecular subjacente a patogenicidade da *Salmonella* como resultado da estimulação dos diversos fatores de virulência das cepas de salmonela.

Quando as aves entram em contato com *Salmonella*, a infecção geralmente ocorre por via oral e depois de passar pelo trato intestinal, estabelece-se uma colonização de longo prazo no ceco, por meio de uma interação íntima entre as bactérias e o epitélio intestinal, onde essa interação é mediada pela expressão dos genes de patogenicidade bacteriana 1 (SPI-1) (DUCATELLE, 2022).

Os fatores de virulência da *Salmonella* estão relacionados a sua capacidade de adesão as células do hospedeiro, invasão, citotoxicidade, resistência a fagócitos e o somatório dos mesmos (KICH et al. 2017).

Os mecanismos moleculares envolvidos na patogenicidade de *Salmonella spp.* também são complexos, e investigações sobre fatores de virulência mostraram que cepas patogênicas são diferenciadas daquelas que não são pela presença de genes específicos de patogenicidade, que estão localizados nas Ilhas de Patogenicidade (PI). (MENDONÇA et al. 2020).

A patogenicidade da *Salmonella* é mediada pela interação de numerosos genes de virulência, localizados nas ilhas de patogenia da *Salmonella* (SPIs), plasmídeos, lipopolissacarídeos e enterotoxinas (WANG et al. 2021).

De acordo com Huberman & Terzolo (2015), ao penetrar no intestino, o agente é capturado por células de defesa (macrófagos, fagócitos e células dendríticas), entretanto, as bactérias dispõem de mecanismos para impedir a ação dessas células. Dentro dessas células, as bactérias se replicam, bem como percorrem a corrente sanguínea do

hospedeiro atingindo órgãos internos. A colonização inicial acontece no fígado e baço, a partir daí a doença progride afetando principalmente o sistema reprodutivo e digestório. Após esse período, os sintomas têm início e o ciclo completo se instala. Apenas por volta do 5º dia pós-infecção, quando a *Salmonella* coloniza o intestino, tem início a eliminação do agente pelas fezes, levando a uma ampla contaminação ambiental.

3.6 SINAIS CLÍNICOS

As três doenças podem acometer aves domésticas de qualquer idade causando sinais clínicos inespecíficos e sistêmicos, com quadros agudos e crônicos que podem ser confundidos com outras bacterioses (STELLA et al. 2021).

Gonçalves (2016) relata que, em relação ao hospedeiro, quando acometido por seu sorotipo específico ocorre o quadro clínico conhecido como “tifo”, caracterizado clinicamente por enterites e, quando acometido por um sorotipo não específico ocorre o quadro conhecido como “paratifo”, caracterizado clinicamente por septicemia e a ave uma vez contaminada se torna portadora de *Salmonella enterica* para o resto da vida, tornando-se um reservatório em criações e um potencial risco de contaminação para técnicos, veterinários e/ou proprietários.

Já em humanos, de acordo com Carneiro et al. (2020), a infecção por salmonella leva a diferentes sinais clínicos, sendo a infecção gastrointestinal a manifestação mais comum e geralmente autolimitada.

3.6.1 Pulatorose

Penha Filho et al. (2016) relatam que a *Salmonella enterica* sorovar pullorum é uma doença grave que causa alta morbidade e mortalidade em aves jovens, especialmente pintos recém-nascidos, causando grande perdas aos avicultores. Segundo Gonçalves (2016), clinicamente ela é caracterizada por apatia, desidratação, anorexia e diarreia branca.

Em aves adultas a doença pode ser leve ou inaparente, ocasionando queda no consumo de ração, penas arrepiadas, crista pálida e retraída, queda de postura,

diminuição na fertilidade e eclodibilidade (OIE, 2018). As aves que resistem à doença tornam-se portadoras assintomáticas e crescem dentro dos parâmetros zootécnicos esperados, produzindo ovos contaminados (CARDOSO; TESSARI 2015).

3.6.2 Tifo aviário

De acordo com Martins et al. (2017), o tifo aviário é a forma septicêmica em adultos, caracterizada pela morte súbita de aves de aspecto prévio saudável, contudo pode ocorrer também em aves jovens e seus efeitos negativos serem importantes até a eclosão. Sendo, segundo Rocha-e-Silva et al. (2018) aves com 3 meses ou mais de idade são mais frequentemente encontradas com a doença, podendo também afetar aves de todas as idades.

Ela é uma doença altamente patogênica em aves comerciais, especialmente galinhas poedeiras de linhagem vermelha e aves reprodutoras pesadas, causando septicemia aguda, e conseqüentemente, alta morbidade e mortalidade (PENHA FILHO et al. 2017). Clinicamente a doença se caracteriza por apatia, desidratação, anorexia e uma diarreia de coloração esverdeada (GONÇALVES, 2016).

As aves com infecção mais prolongada podem apresentar ooforite, que gradualmente as torna inférteis e durante o processo gradual desta infecção há, entretanto, a formação de folículos normais e a geração de progênie viável, que garante a transmissão vertical (MARTINS, 2017).

Ainda, segundo Estupiñan (2016), os sinais clínicos de aves acometidas na forma aguda incluem acúmulo de líquido seroso em pericárdio (hidropericárdio) e inflamações em baço, pulmões, rins, moela, intestino em porção duodeno-cecal e peritonite difusa.

3.6.3 Paratifo aviário e humano

Nas aves, o paratifo é capaz, em aves jovens, de colonizar o intestino e estabelecer infecção sistêmica. Por outro lado, as infecções provocadas em aves adultas geralmente não são graves, mas as aves se tornam portadoras e capazes de transmitir vertical ou horizontalmente o microorganismo por longos períodos (PAIVA et al. 2020).

Salem et al. (2017) citam que, em humanos, os mais acometidos são os imunocomprometidos, idosos, crianças e gestantes, sendo clinicamente caracterizada pela presença de diarreia, náuseas, vômitos e cólicas abdominais, e geralmente é auto-limitação.

3.7 Diagnóstico

A salmonelose pode ser suspeitada pelos dados epidemiológicos, achados clínicos e de necropsia (RIBEIRO, 2017). Os exames laboratoriais como a identificação dos agentes por meio de isolamento bacteriano, soroaglutinação rápida em placas, soroaglutinação lenta em tubos e reação em cadeia da polimerase (PCR), também podem ser realizados (STELLA et al. 2021).

3.7.1 Clínico

De acordo com Guastalli & Buim (2023), os sintomas apresentados pelas aves são inespecíficos e seu diagnóstico deve ser feito por isolamento dos órgãos acometidos na fase aguda e sorologia na fase crônica.

Costa (2018) cita que, de um modo geral, os sintomas comuns apresentados pelas em aves jovens são prostração, asas caídas, anorexia, diarreia esbranquiçada, perda de peso, debilidade geral e penas eriçadas, podendo apresentar artrite e dificuldade respiratória e em aves adultas portadoras assintomáticas, apresentando: diarreia, refugos, falsas poedeiras, queda na produção, anemia, anorexia, mal súbito, fezes esverdeadas ou amarelo-esverdeada.

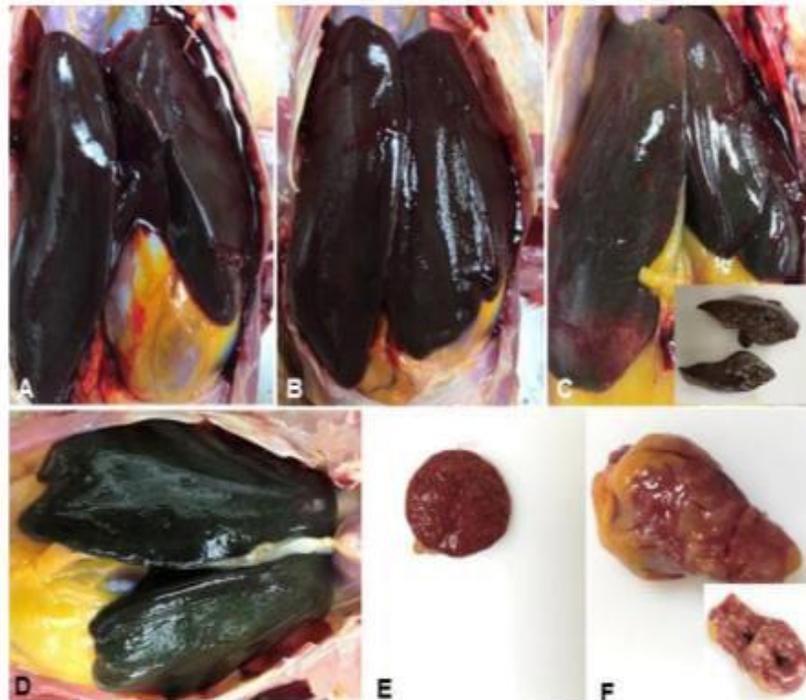
No Paratifo, as aves apresentam retardo no crescimento, apatia, com as penas arrepiadas e perdem o apetite e as taxas de mortalidade e morbidade dependem da intensidade da infecção e do sorotipo envolvido, no entanto, a taxa de mortalidade tende a ser menor quando comparada com a pulorose ou o tifo aviário (KASMANAS, 2022).

3.7.2 Anatomopatológico

A avaliação e o estudo de lesões encontradas no campo e durante o abate de aves em frigoríficos são reconhecidos como um método importante de monitoramento de enfermidade sem criações comerciais (CASAGRANDE et al. 2017).

De acordo com Lopes (2021) na Salmonelose Aviária frequentemente são descritas alterações no fígado, como hepatomegalia, congestão coloração variando de vermelho-acobreado a verde-amarelado, além de áreas milimétricas branco-amareladas no parênquima. Outros tecidos também podem ser acometidos; no baço pode haver esplenomegalia (além de áreas brancas multifocais) e hiperemia. No coração, podem ser observados nódulos brancos no epicárdio e no miocárdio (Figura 2).

Figura 2 - Alterações macroscópicas em galinhas de postura de 77 semanas infectadas por *Salmonella gallinarum*.



Fonte: LOPES (2021).

Podem ocorrer, ooforite, salpingite, peritonite e perihepatite. Linhagens resistentes demonstram menos lesões post-mortem, não apresentando mudanças anatomopatológicas significativas. As lesões pós morte se localizavam principalmente fígado, que estava aumentado com coloração verde amarelado e de consistência friável, pode ser notado também baço aumentado e com congestão (OLIVEIRA, 2014).

Em um trabalho realizado por Pinto et al. (2017), em aves de quintal com suspeita de Salmonelose Aviária, onde realizaram a necropsia de uma das aves do grupo para avaliação de possíveis alterações macroscópicas nas estruturas internas. Diante do exposto, foram detectadas lesões sugestivas de Pulorose em aves adultas, como demonstrado nas Figuras 3 e 4.

Figura 3 – Nódulos de tamanhos variados sobre a serosa e mesentério do intestino grosso e delgado.



Fonte: PINTO et al. (2017).

Figura 4 – Folículos atrofiados apresentando contorno irregular.



Fonte: PINTO et al. (2017).

3.7.3 Laboratorial

Mediante as dificuldades de identificação clínica, a única forma de se obter o diagnóstico ou monitoramento da presença de *Salmonella entérica* nos animais é pela realização de exames complementares laboratoriais (GONÇALVES, 2020).

O método bacteriológico recomendado para o diagnóstico de *Salmonella spp.* é trabalhoso e demorado (CORRÊA et al., 2018). Para realizar está técnica, geralmente são utilizadas algumas etapas fundamentais como: Pré enriquecimento; enriquecimento seletivo; semeadura em placa; provas bioquímicas e sorotipificação (DUARTE et al. 2016).

Entre os testes de custo mais acessível, o ELISA tem sido uma ferramenta útil para monitorar a infecção por *Salmonella spp.* em aves, uma vez que, embora a excreção não seja constante, a resposta sorológica persiste por vários meses (LOPES et al. 2016).

A técnica de ELISA foi concebida e desenvolvida por Peter Perlmann, pesquisador principal, e Eva Engvall na Universidade de Estocolmo, Suécia (POSSAS, 2012). Ela se baseia na formação de um complexo antígeno-anticorpo, com atividade imunológica e enzimática que ao adicionar um substrato cromógeno ocorre o desenvolvimento de coloração, que pode ser mensurado com o auxílio de um espectrofotômetro (TOMICH, 2009).

Para realização da técnica, de acordo com Nascimento et al. (2014), requer uma estrutura laboratorial mais sofisticada, são fáceis de serem executados e passíveis de automação, o que possibilita examinar um grande número de amostras, além de apresentarem estabilidade dos reagentes e o emprego destes em quantidades mínimas.

O uso de metodologias que associam alta sensibilidade, especificidade e velocidade do diagnóstico é extremamente importante (COELHO et al. 2021). E o ELISA é considerado sensível, preciso e é capaz de detectar até mesmo quantidades ínfimas de antígenos ou anticorpos e para que isso ocorra é essencial que os reagentes e os parâmetros das dosagens e análises estejam bem padronizados e validados no laboratório (PEREIRA, 2019).

De acordo com Guimarães (2017), o ELISA baseia-se na imobilização do complexo antígeno-anticorpo em suporte (geralmente placa de 96 poços) seguido de lavagens após cada etapa para remoção de reações inespecíficas, bloqueio de regiões não ocupadas pelo antígeno ou anticorpo ligados a superfície da placa, ou ainda para diminuir ligações não específicas e por fim serem analisadas por reação colorimétrica através da adição de um anticorpo ou antígeno ligado à uma enzima, e por sua vez, um substrato enzimático para conseguir resultado colorimétrico.

A utilização do ensaio imunoenzimático (ELISA) para a detecção de proteínas (antígenos ou anticorpos), é uma das ferramentas mais prontamente disponíveis em todo o mundo e atualmente comumente utilizada na Medicina Veterinária para realizar a vigilância e monitoramento de doenças, bem como uma ferramenta de diagnóstico (RAMIREZ, 2022).

A principal vantagem do ELISA é que ele pode fornecer uma duração de tempo menor (menos de dois dias) para a detecção de Salmonella, em comparação com a

cultura método (aproximadamente uma semana), e além disso, é um teste mais específico do que o método cultural convencional (TAN et al., 2022).

Na técnica ELISA, parte das reações ocorrem em meio sólido de maneira a separar os imunocomplexos dos reagentes não ligados, sendo utilizado uma placa convencional que consiste em 96 poços individuais dispostos em oito linhas e doze colunas com dimensões definidas pelo American National Standards Institute em 1996, onde o material utilizado é poliestireno, de alta transparência e o fundo chato e plano (Figura 5) (CARDOSO, 2016).

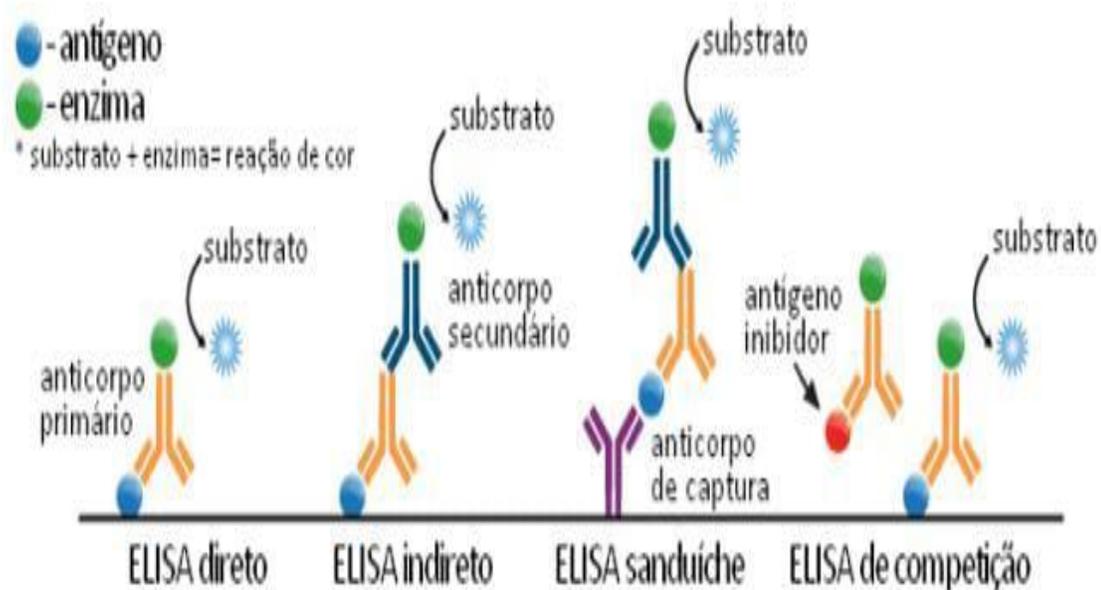
Figura 5 - Microplaca transparente de poliéstereno com 96 poços.



Fonte: CARDOSO (2016).

A Franco et al. (2021) citam que os testes Elisa apresentam 04 (quatro) tipos, sendo estes: o direto; indireto, sanduiche e de competição (Figura 6).

Figura 6 – Tipos de Teste ELISA.



Fonte: FRANCO et al. (2021).

De acordo com Bender & Von Muhhlen (2018), o ensaio imunométrico, mais conhecido como ELISA indireto é capaz de identificar e quantificar anticorpos contidos na amostra por meio da ligação com o antígeno adsorvido na fase sólida.

Segundo Franco et al. (2021), é muito utilizado para o diagnóstico de doenças infectocontagiosas, e sua técnica consiste em utilizar dois anticorpos, o primário e o secundário. Uma amostra é preparada com o anticorpo primário na qual tem afinidade para o antígeno que vai ser detectado. Dessa forma, ao introduzir o antígeno esse se ligará ao seu alvo, o anticorpo primário. É realizada uma lavagem para retirada daqueles que não tiveram afinidade e logo não realizaram a ligação. Nesse momento o anticorpo secundário é introduzido e ele se ligará aos anticorpos primários (Figura 7). Isso permite um aumento da especificidade do teste.

Figura 7 – Exemplicação do ELISA indireto.



Fonte: Franco et al. (2021).

De acordo com Crowther (2021), para realizar a sua padronização, é necessário achar os valores de especificidade, sensibilidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e a precisão do teste (acurácia).

A validação de qualquer método analítico para quantificação de biomarcadores em alguma matriz biológica (como soro, por exemplo), é de bastante importância para estudos clínicos e de bancada, sendo crítico para confiabilidade dos dados e assim da segurança dos resultados (MINIC; ZIVKOVIC, 2020).

Destes métodos, o ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) e a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) mostram especificidade e sensibilidade comparável aos métodos convencionais, porém dependem em grande parte da microflora e matriz da amostra, da presença de células não cultiváveis e de substâncias inibidoras, tais como gorduras, proteínas, polissacarídeos, metais pesados, antibióticos e compostos orgânicos (BIER et al., 2017).

Coelho et al. (2021) citam que a reação em cadeia polimerase (PCR), bem como outros métodos rápidos representam alternativas cada vez mais utilizadas para detectar patógenos entéricos. LOPES et al. (2016) corrobora, confirmando que o uso desta técnica é o modo mais rápido e sensível para detectar fatores de virulência bacteriana.

3.8 TRATAMENTO

De acordo com Calaça et al. (2019), uma forma de tratamento para as salmoneloses no Brasil, visando amenizar seus efeitos sobre o trato gastrintestinal das aves, é o uso de antimicrobianos melhoradores de desempenho nas rações, uma vez que ainda não foram proibidos de serem utilizados no país.

O tratamento com antibióticos para febre tifóide aviária e pulrose no Brasil só é permitida para galinhas poedeiras comerciais e produtoras de carne de frango de corte e não aceitos para linhagens de matrizes, sendo necessário eliminar os bandos infectados (PENA FILHO et al. 2016).

Lopes et al. (2016) citam que antibióticos que agem em bactérias Gram-negativas são os indicados no tratamento inicial das infecções de aves até que se disponha do antibiograma, no entanto, utiliza-se de amplo espectro de ação, seguido do uso de complexos vitamínicos, de dieta balanceada e de manejo sanitário adequado.

A *Salmonella* contribui para o aumento da resistência bacteriana, pois causam doenças nas aves, o que requer maior uso de antimicrobianos para tratamento (MUNIZ et al., 2022). Ainda, Assunção et al. (2019) mencionam que para alcançar altos níveis de produção e controle de patógenos para frangos de corte, umas das alternativas é a utilização de aditivos alimentares capazes de promover o crescimento.

3.9 MEDIDAS DE CONTROLE E PROFILAXIA

O integrado sistema de produção e os inúmeros processos pelos quais o alimento passa até chegar ao consumidor contribui para a saúde precária das aves, e assim, aumentar o risco de contaminação (SILVA et al. 2021).

A microbiota patogênica na avicultura industrial denota preocupação com à saúde das aves, que podem desenvolver diferentes enfermidades, bem como à saúde pública, uma vez que os microrganismos patogênicos presentes no seu trato gastrointestinal podem contaminar as carcaças nos abatedouros e propiciar doenças no homem (SOUZA et al. 2020).

O Ministério da Saúde (2022) relata que a *Salmonella* pode ser prevenida por meio da adoção de medidas de controle em todas as etapas da cadeia alimentar, desde a produção agrícola até o processamento, fabricação e preparação de alimentos, tanto em estabelecimentos comerciais quanto nas residências.

O controle de procedência das aves e seu status sanitário é importante para a prevenção e o controle da *Salmonella spp.* nos abatedouros, sendo indispensável a avaliação documental do boletim sanitário (BONFATI, 2018).

Dentre as legislações existentes, a Instrução Normativa SDA nº 20 de 21 de outubro de 2016, com objetivo de reduzir a prevalência desse agente e estabelecer um nível adequado de proteção ao consumidor, ajudam no auxílio do controle e monitoramento da Salmonelose.

O Programa Nacional de Sanidade Avícola (PSNA), apresenta como objetivo, prevenir e controlar as enfermidades de interesse em avicultura e saúde pública; definir ações que possibilitem a certificação sanitária do plantel avícola nacional; e favorecer a elaboração de produtos avícolas saudáveis para o mercado interno e externo (MAPA, 2022).

Eno et al. (2016) mencionam que, em geral, a notificação de doenças em aves causadas por *Salmonella gallinarum* e *Salmonella pullorum* e outras salmonelas é obrigatória. Microrganismo este contemplado na lista das doenças de notificação obrigatória presente na Instrução Normativa nº 50 de 24 de setembro de 2013 - MAPA, onde contempla a lista de Doenças de Notificação Obrigatória ao Serviço Veterinário Oficial.

Segundo Salles (2023) várias são as ferramentas utilizadas para controle das salmoneloses em aves, mas, nos últimos anos, têm se destacado os programas de

vacinação, cada vez mais amplos e eficientes, e que incluem desde as reprodutoras até as aves comerciais, de modo a se evitar que essas moléstias se mantenham nos plantéis.

Perdigón (2023) cita que, hoje o controle da gestão sanitária de uma granja está baseado no uso da BIOSSEGURIDADE, que nada mais é do que o acompanhamento das normas de prevenção de múltiplas doenças transmitidas direta e indiretamente. E Hofacre (2023) diz que um programa de biosseguridade deve incluir o gerenciamento de fatores de risco, como movimentação de pessoas e equipamentos, limpeza, desinfecção, controle de pragas (roedores/insetos), projeto e construção de edifícios biosseguros, entre outros.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 QUESTÕES ÉTICAS

A coleta das amostras de sangue das aves para este estudo foi realizada seguindo o fluxograma do processo de abate, na área de sangria, de acordo com a Portaria nº 210 de 10 de Novembro de 1998 – MAPA - Regulamento Técnico da Inspeção Tecnológica e Higiênico-Sanitária de Carne de Aves. Esta etapa ocorre logo após a de insensibilização, onde através de um corte (manual) dos grandes vasos do pescoço, promove a hipovolemia total da ave, para que então possa seguir para as demais etapas da produção. No exame pós morte realizado pela equipe de inspeção, as vísceras de frango que seriam condenadas por apresentar lesões macroscópicas sugestivas de *Salmonella spp.*, foram cedidas para realizar o isolamento e identificação do microrganismo.

Em decorrência desses fatores, tornou-se desnecessária a solicitação de protocolo para liberação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA).

4.2 COLETA DAS AMOSTRAS

A coleta das amostras de sangue das aves para identificar anticorpos anti salmonela através do teste ELISA indireto, foram realizadas em um Abatedouro Frigorífico inspecionado pelo Serviço de Inspeção Estadual (S.I.E) (Obedecendo aos protocolos de biossegurança determinados pelo estabelecimento e seguindo as normas do RIISPOA), localizado na região do recôncavo da Bahia.

Previamente ao dia de coleta das amostras, foi solicitado à equipe do Controle de Qualidade da indústria a programação de abate para realizar a escolha do lote a ser estudado. Sendo então escolhido um lote de 12000 aves com apenas um núcleo.

Já na plataforma de recepção de aves vivas do Abatedouro Frigorífico, foi verificado, juntamente com a equipe do Serviço de Inspeção Estadual, os documentos

de trânsito (Guia de trânsito animal) e o Boletim Sanitário para assegurar a procedência dos animais.

De acordo com a Instrução Normativa nº 20 de 21 de outubro de 2016, com objetivo de reduzir a prevalência desse agente e estabelecer um nível adequado de proteção ao consumidor, determina que realize ensaios laboratoriais em todos os lotes de estabelecimentos avícolas para detecção de Salmonelas. Com isso, foi realizado a busca desses dados no Boletim Sanitário, da presença ou ausência do microrganismo no lote em estudo. Tendo como resultado, ausência de *Salmonella spp.*.

Após escolher o lote (12.000 aves/núcleo único) e verificação da documentação exigida, o número total de amostras a serem coletadas, foi definido de acordo com o número de aves detectadas com suspeita de Salmonelose aviária. Do total deste lote, no exame ante mortem realizado pelo Serviço de Inspeção Estadual, foram identificadas 44 aves com suspeita apresentando sintomatologia clínica e coletadas amostras de sangue (controle positivo). Sendo também coletadas 42 amostras de sangue de aves aparentemente saudáveis (controle negativo).

Como o percentual de aves suspeitas neste lote ficou abaixo do limite crítico, foram instituídos protocolos de medidas profiláticas de acordo com RIISPOA (ART. 91), onde o abate foi realizado em separado dos demais animais. Sendo abatidos no final da matança normal, sob cuidados especiais e a dependendo do caso, as carnes poderão ser declaradas próprias ou impróprias para o consumo (PORTARIA 210 - AVES).

De acordo com o Programa de Autocontrole da Indústria – PAC 14 – Bem Estar Animal (obrigatório nos estabelecimentos industriais, de acordo com a Portaria nº144 de 05 de Junho de 2019 – Agência de Defesa Agropecuária da Bahia), foi realizado o controle de mortalidade deste lote, apresentando-se abaixo do valor estabelecido (valor de referência: igual ou superior a 0,4%), em normas complementares, onde o fiscal estadual optou em não realizar a necropsia desses animais (ART. 97, parágrafo 2º do RIISPOA). Caso este quantitativo fosse superior, o Médico Veterinário do Serviço de Inspeção procederá com a apreensão, isolamento de todo o lote e comunicação imediata à Agência de Defesa Agropecuária da Bahia.

Como demonstrado na figura 8, os animais suspeitos foram abatidos em separado dos demais e a coleta das amostras foi realizada no setor de sangria, logo após a insensibilização das aves. E a coletada das amostras das aves aparentemente saudáveis foram coletadas durante o fluxo normal de abate.

Figura 8 – Coleta de amostras de sangue das aves na área de sangria.



Por fim foi realizado a identificação das amostras, respectivamente, acondicionadas em caixa isotérmica contendo gelo e transportadas ao LADI do Hospital veterinário da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB.

4.3 LOCAL DE ESTUDO DAS AMOSTRAS

O processamento e análise das amostras coletadas para efetivar o experimento, foi realizado na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), no Laboratório de Doenças Infecciosas (LDI)- Hospital Universitário de Medicina veterinária (HUMV), localizado no município de Cruz das Almas – Bahia.

4.4 PRODUÇÃO DO ANTIGENO

O antígeno utilizado seguiu o protocolo estabelecido por ALMEIDA (2023) na qual preconizou-se primariamente a produção de um antígeno dialisado, nomeado posteriormente de DAS. Para isso foram utilizados 1,1g de SS Agar diluído em um Becker com 200ml de água destilada, tal mistura foi aquecida até entra em ebulição com o auxílio do agitador magnético.

Com o conteúdo das placas em estado sólido foram alocadas colônias de *Salmonella spp.* já existentes no Laboratório de Doenças Infecciosas - LDI para replicação, com o uso de uma alça de platina esterilizada em bico de Bunsen, tais placas foram alocadas em estufa com a temperatura de 37°C, tendo crescimento subsequente das colônias.

Testes de coloração de lâminas foram feitos para visualizar a bactéria e a presença de possíveis contaminações que poderiam prejudicar o experimento, constando apenas a presença dos bacilos gran negativos em lâmina. Após a fase de crescimento em meio sólido, preconizou-se a expansão em meio líquido com o uso de EC *Broth*. Para isso pesou-se 14,8 gramas do caldo, posteriormente misturados com 500 ml de água destilada em um Erlenmeyer e alocados no agitador magnético até o estado de homogeneização e ebulição do líquido.

Após ebulição e consecutivo resfriamento foi acrescentado ao Erlenmeyer parte da cultura bacteriana presente na placa de petri com o uso da alça de platina e em seguida a vidraria foi alocada na estufa a 37 °C por 48 horas para expansão bacteriana. Foram alocados dois lotes de seis tubos de 15 ml, uma pipeta de vidro de 20 ml, duas galerias, peras, luvas e gazes. Ainda dentro do fluxo foram distribuídos cerca de 13 ml

da solução bacteriana expandida presente no Erlenmeyer dentro de todos através de pipetagem.

Os tubos foram então alocados na centrífuga, configurada em 3.000 rotações por minuto (RPM), com tempo estipulado em 15 minutos, com o intuito de separar a massa bacteriana do líquido. Após o término da centrifugação os tubos foram novamente alocados no fluxo laminar, para que fosse feito o descarte do líquido.

Com o uso da pipeta e ponteira, foram acrescentados 500 microlitros de solução salina nos tubos de número um e por cerca de 10 vezes o mesmo líquido foi retirado e realocado, afim de suspender a massa. O líquido dos tubos número um foram repassados para os tubos número dois, onde foram feitas as mesmas manobras para suspensão da massa e assim seguiu-se até os tubos de número seis, acrescentou-se solução salina nos últimos tubos até totalizar 10 ml, para potencializar a suspensão da massa.

O tubo restante de cada lote passou novamente por centrifugação a 3.000 RPM por 20 minutos e após isso seguiram novamente para o fluxo laminar, onde foram acrescentados 1.000 microlitros de solução salina em cada tubo. Foi feita então a homogeneização com o uso da pipeta e ponteira por 10 vezes e em seguida o conteúdo de ambos os tubos foi armazenado em um tubo único.

O tubo que restou dos processos da lavagem foi alocado em banho-maria na temperatura de 50°C por 30 minutos, sendo homogeneizado a cada 10 minutos, subsequentemente foi alocada no congelador, onde passou 12 horas. Após esse período foi centrifugado e utilizado o sobrenadante.

4.5 PROTOCOLO DO ELISA indireto

O protocolo do ELISA indireto foi baseado e adaptado do protocolo de Fernandes (2022), no qual o antígeno produzido passou por processo de determinação da concentração a ser utilizada no teste ELISA indireto.

Primeiramente foi sensibilizada uma placa de poliestileno com 96 poços (COSTAR 3590) para determinação da melhor titulação, utilizando tampão carbonato-bicarbonato e diferentes diluições do antígeno, sendo na coluna 1 e 2, 1:200, na coluna 3 e 4, 1:400,

na coluna 5 e 6, 1:800, na coluna 7 e 8, 1:1.600, na coluna 9 e 10, 3:200, e na coluna 11 e 12, 1:6.400. A placa foi deixada na geladeira over-night, por 20 horas (média) em uma câmara úmida. Posteriormente foi lavada duas vezes com PBS-T20.

Após a lavagem, foi realizado o bloqueio da placa, com leite desnatado em pó diluído em PBS-T20 à 5% e deixada na estufa à 37°C por duas horas. Após esse tempo, a placa foi lavada novamente duas vezes.

Após a segunda lavagem foi distribuído na placa em duplicatas o branco - meio de diluição dos soros (fileiras A e B), soro comprovadamente negativo (fileiras C e D), soro comprovadamente positivo (fileiras E e F). A placa foi deixada na estufa à 37°C por uma hora, foi lavada com PBS-T20 cinco vezes.

Posteriormente foi distribuído 100 microlitros dos soros testes, diluído em leite a 1% e incubado por 1h. Depois desse tempo foi realizada a lavagem com PBST20 cinco vezes e acrescido o conjugado (imunoglobulina de coelho anti-IgG [molécula inteira - H+L] de ave marcado com peroxidase - Sigma) por poço. A placa foi deixada na estufa à 37°C por uma hora e meia e retirada, lavada por cinco vezes com PBS-T20.

Em seguida, foi adicionada a solução reveladora (10 ML Ácido cítrico + 60 microlitros H₂O₂ (30 volume) + 60 µg de OPD). A reação foi freada com ácido sulfúrico (H₂SO₄) após média de 30 minutos e lida no espectrofotômetro com filtro de 492 nm. Dessa maneira, o processo para determinação da titulação do antígeno, definiu no mesmo momento o protocolo ELISA indireto a ser utilizado. A definição da melhor titulação foi 1:200, sendo 100 microlitros por poço.

4.6 ESTUDO DO PONTO DE CORTE, SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE

O ponto de corte foi determinado através do cálculo da média de animais não reagentes acrescido de três vezes o desvio padrão populacional (Média aritmética de não reagentes + 3 • Desvio padrão populacional) baseada em Frey; Di; Zurakowski (1998). Para o estudo da sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo e acurácia foram calculados com as fórmulas preconizadas por Soares et al. (2012), de acordo com a Tabela 1.

Tabela 1 – Representação do cálculo da sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivos e negativos e acurácia.

Resultado do teste	Condição do animal		
	Doente	Não-doente	Total
Positivo	A	B	a+b
Negativo	C	D	c+d
Total	a+c	b+d	a+b+c+d (N)

Fórmulas:

Sensibilidade: $a/(a+c) \times 100$

Especificidade: $d/(b+d) \times 100$

Valor preditivo positivo: $a/a+b$

Valor preditivo negativo: $d/c+d$

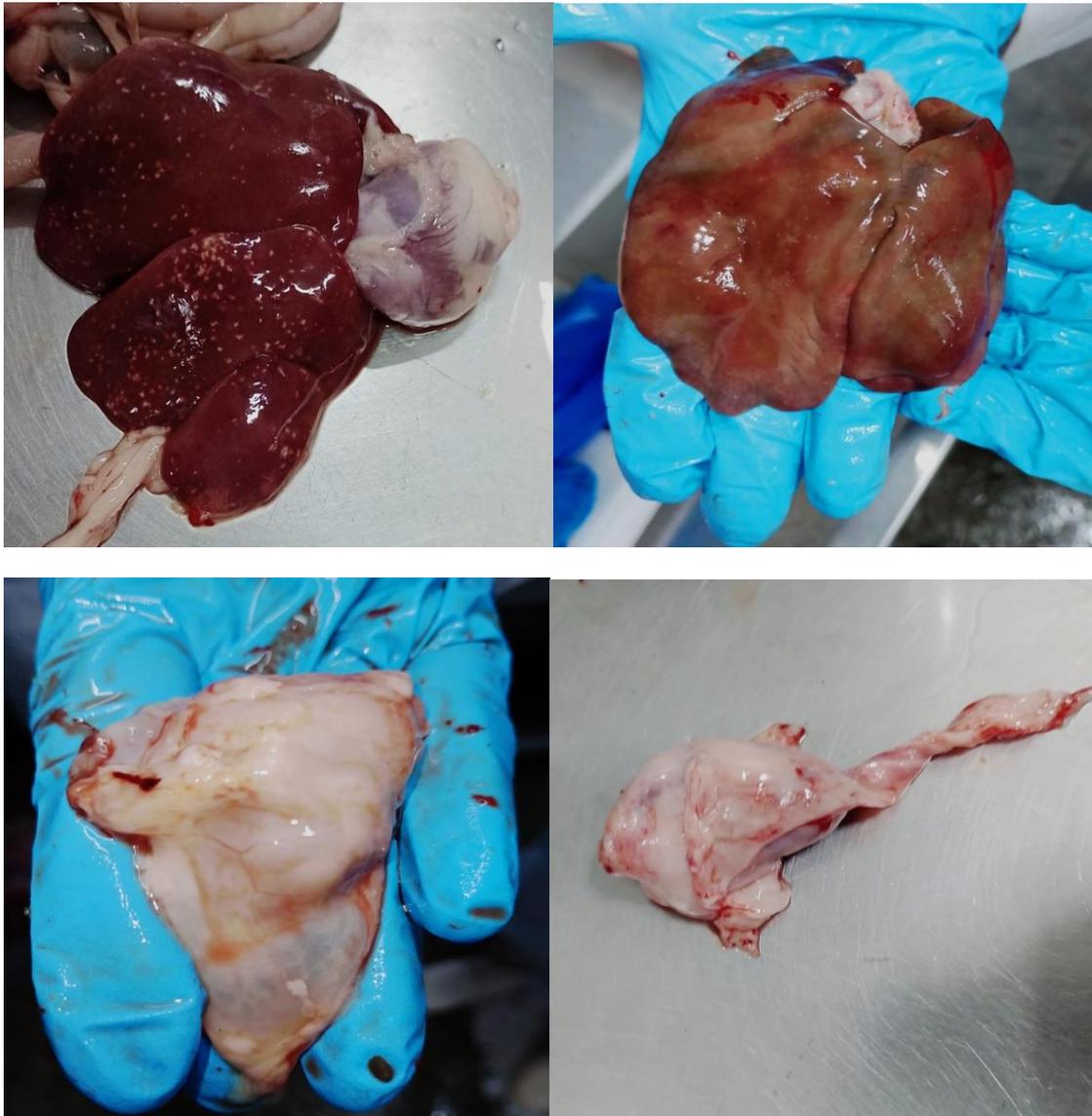
Acurácia: $(a+d)/(a+b+c+d)$

Soares et al. (2012).

4.7 ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DA *SALMONELLA SPP.*

Com a finalidade de demonstrar a existência da *Salmonella spp.* de amostras de vísceras de frangos (mesmo lote em estudo) abatidas no abatedouro frigorífico com inspeção estadual. Foram coletadas amostras de fígado e coração com lesões de necroses e/ou abscessos, condenadas na linha de abate para realização do isolamento e identificação (figura 9). Para isso foram coletadas 50 amostras de vísceras de frangos abatidos, sendo 25 amostras de fígado e 25 amostras de coração.

Figura 9 – Lesões macroscópicas em vísceras condenadas pela Inspeção Estadual.



O protocolo de isolamento das amostras foi realizado. O cultivo bacteriano seguiu as normas estipuladas pelo Plano Nacional de Sanidade Avícola (BRASIL, MAPA, 2002) com algumas modificações. O protocolo iniciou-se com o pré-enriquecimento da seguinte forma: uma vez no laboratório, as soluções resultantes do processo de enxague foram mantidas à temperatura de incubação a 37 °C por 24 h.

Após esse período, o passo seguinte foi de enriquecimento seletivo, que consistia na retirada de alíquotas do pré-enriquecimento para os meios Rappaport-vassiliadis na

proporção de 1:100 e Selenito Cistina na proporção de 1:10. De cada uma das culturas de enriquecimento seletivo, utilizou-se uma alça de platina e alíquotas foram semeadas de forma asséptica em placas contendo os meios agar Verde Brilhante, agar MacConkey e agar Salmonella – Shigella. A temperatura de incubação foi padronizada em 37 °C por um período de 24 h.

A identificação presuntiva foi realizada através das culturas obtidas do plaqueamento seletivo. Dessa forma, foram colhidas, com auxílio de uma agulha de platina previamente flambada, amostras de cada uma das placas semeadas, sendo escolhidas entre duas e três colônias sugestivas para Salmonella e incubadas em tubos contendo agar inclinado Tríplice Açúcar Ferro (TSI) e agar inclinado LisinaFerro (LIA). Para a realização da prova do Indol, foi utilizado o meio SIM (Sulfeto, Indol e Motilidade) que caracteriza as bactérias em relação à motilidade, à produção de sulfeto e à reação de Indol. A prova do Citrato também foi realizada.

A incubação seguiu a temperatura de 37 °C por um período de 24 h. Assim sendo, as bactérias foram classificadas quanto ao gênero de acordo com as características bioquímicas apresentadas nessas provas. As provas bioquímicas realizadas foram provas de urease, sulfeto-indol-motilidade (SIM), Lisina, Citrato e desaminação da fenilalanina.

5 RESULTADOS

A diluição ótima do soro foi determinada pela diferença entre as densidades ópticas obtidas nas leituras dos soros positivos e negativos. Aquela que apresentou maior diferença nas diferentes concentrações de antígeno foi escolhida (1:200). A partir daí, foi determinado o ponto de corte do Elisa indireto os soros de aves sabidamente soronegativos.

O ponto de corte foi **0,497** ($0,23 + 3 \cdot 0,154$). A partir deste resultado foram identificadas amostras positivas para presença de anticorpos anti-salmonella em 100% das amostras analisadas. Enquanto que, a análise da amostra negativa apresentou 92,85% de especificidade, sendo observado que alguns animais deram positivos (Tabela 2). Apresentando 100% de sensibilidade e 92,85% de especificidade.

Foram consideradas aves doentes aquelas com suspeita de Salmonelose Aviária através da inspeção visual no exame ante mortem, na plataforma de recepção de aves vivas. Da mesma forma, foi definida as aves saudáveis, aquelas que se apresentavam hípidas.

Tabela 2 – Resultado do ponto de corte das amostras positivas e negativas.

Resultado do teste	Condição do animal		
	Doente	Não-doente	Total
Positivo	44	3	47
Negativo	0	39	39
Total	44	42	86

Para validar o teste de ELISA indireto padronizado, foram calculados os valores de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e a precisão do teste (acurácia), utilizando as fórmulas abaixo:

Fórmulas:

$$\text{Sensibilidade: } a/(a+c) \times 100 = 44/44 \times 100 = 100\%$$

$$\text{Especificidade: } d/(b+d) \times 100 = 39/42 \times 100 = 92,85\%$$

$$\text{Valor preditivo positivo: } a/a+b = 44/47 = 0,94$$

$$\text{Valor preditivo negativo: } d/c+d = 39/39 = 1$$

$$\text{Acurácia: } (a+d)/(a+b+c+d) = 83/86 = 0,965$$

Na validação do teste ELISA indireto, das 42 amostras utilizadas como controle negativo, apenas 39 ficaram acima do ponto de corte, indicando uma especificidade de 92,85%. Das 44 amostras suspeitas de Salmonelose Aviária, todas apresentaram 100% de sensibilidade. O valor preditivo positivo foi de 0,94 e o valor preditivo negativo foi de 1 e a precisão do teste (acurácia) foi de 0,965. Estes valores de especificidade e sensibilidade do ELISA indireto desenvolvido utilizando o antígeno, caracteriza como um teste eficaz para avaliar a identificação de anticorpos em animais convalescentes, podendo ser um indicador de imunidade humoral adquirida.

Gráfico 1 – Amostras negativas para *Salmonella* spp.

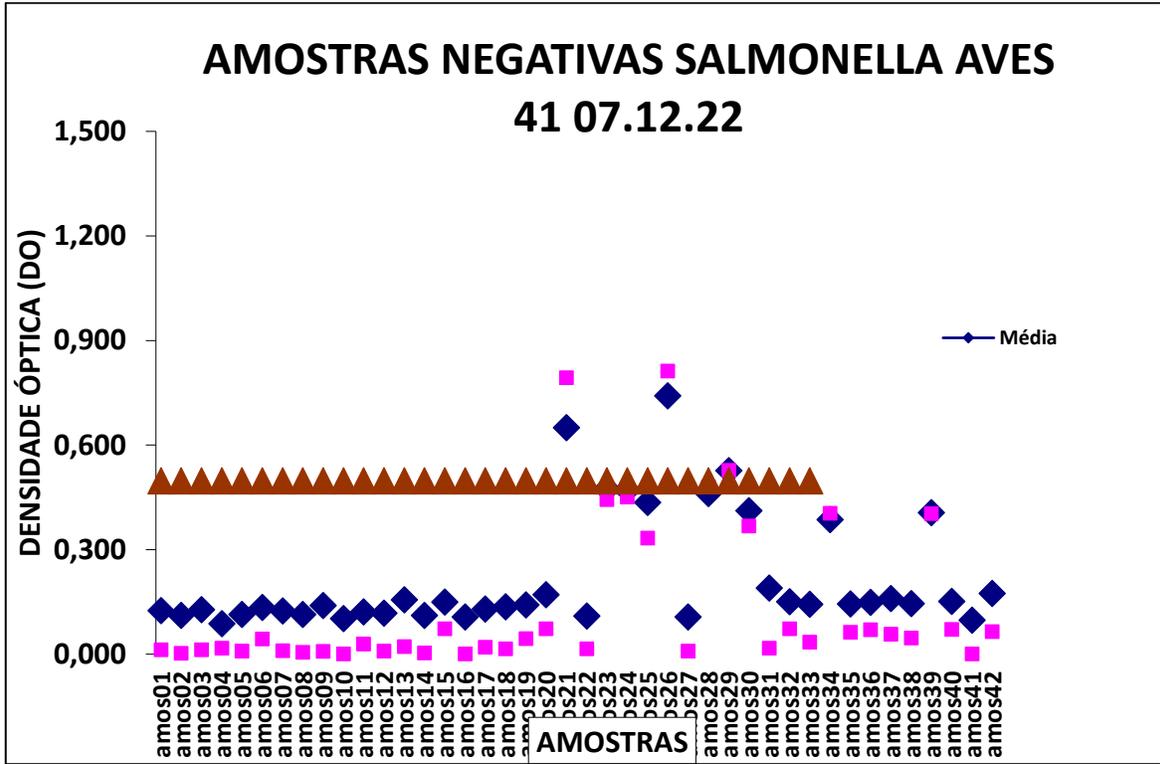
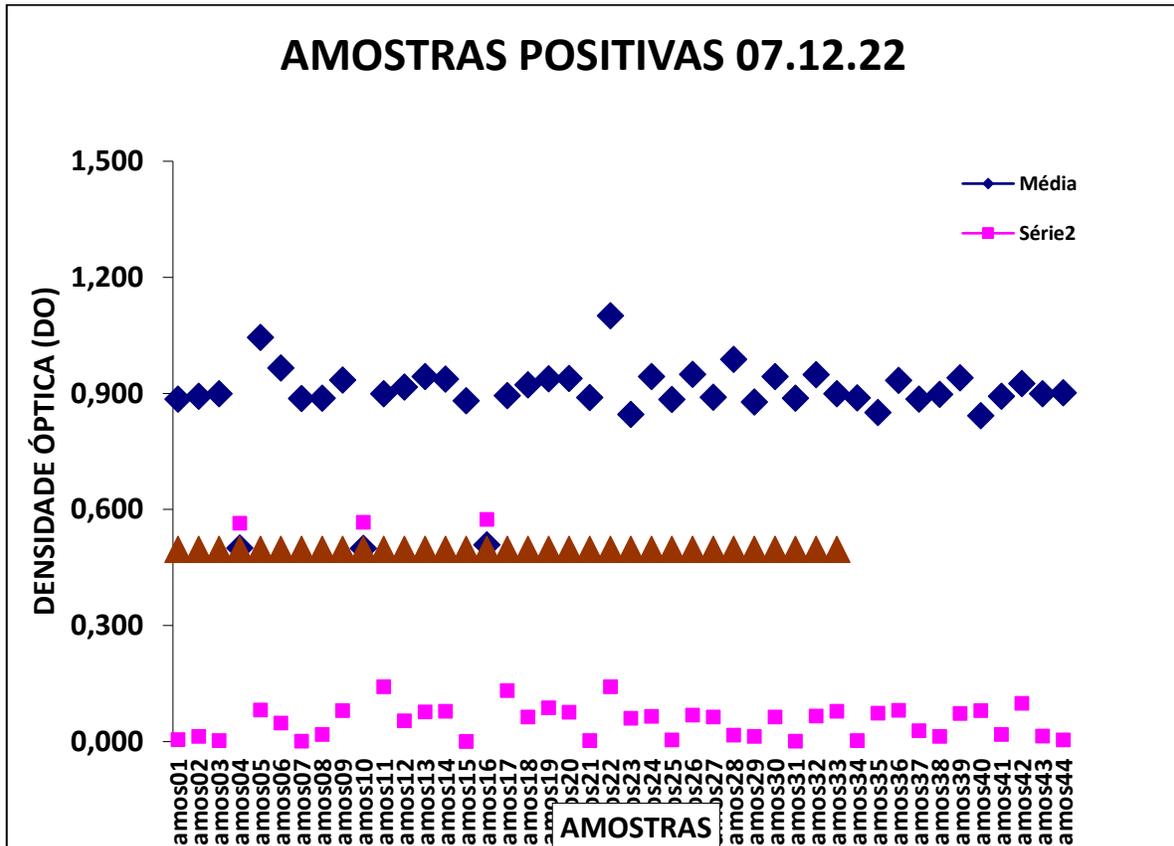


Gráfico 2 – Amostras positivas para *Salmonella spp.*

Durante a realização do teste, medidas foram tomadas para garantir a qualidade do resultado, onde o armazenamento adequado principalmente o substrato, que deve ser mantido em lugar privado de luz para evitar a foto decomposição, deve ser realizado a manutenção periódica dos equipamentos de lavagem para evitar acúmulos químicos.

Os resultados obtidos no isolamento e identificação demonstraram que a *Salmonella spp.* estava presente (no lote em estudo) na linha de abate de vísceras condenadas por lesões características da salmonelose. Das 25 amostras de fígado com lesão foi isolado sugestivo de *Salmonella spp.*. Nas amostras de coração foram observadas que das 25, apenas três amostras não apresentaram crescimento e 20 amostras apresentaram crescimento sugestivo de *Salmonella spp.*.

6 DISCUSSÃO

A Salmonelose Aviária é uma zoonose que impacta negativamente a cadeia produtiva de aves, e para manter o status sanitário adequado desses animais faz-se necessário que se apliquem medidas de controle e prevenção e busque métodos diagnósticos rápidos e precisos. Barbosa et al. (2022), reforçam citando que, o sucesso da cadeia produtiva está relacionado a eficiência de produção, além de qualidade e segurança do alimento, associadas às medidas de biosseguridade.

Ficou demonstrado neste estudo que é importante o uso de métodos diagnósticos capazes de detectar a *Salmonella spp.*, com efetividade e confiabilidade para instituir, de forma precoce, o tratamento mais adequado. Estudos realizados por Vieira Junior (2022) demonstrou que os ensaios imunoenzimáticos são importantes métodos para detecção de antígenos e anticorpos, podendo diagnosticar a doença ativa ou pregressa. E Pereira (2019) comprovou que o teste ELISA indireto é um método considerado sensível, preciso e capaz de detectar até mesmo quantidades ínfimas de antígenos ou anticorpos.

As amostras analisadas, neste estudo, através do teste ELISA indireto, apresentaram em seus resultados alta sensibilidade e alta especificidade na detecção de anticorpos anti *Salmonella spp.*, presentes no soro sanguíneo das aves testadas. Resultados estes que foram comprovados por Franco et al. (2021), onde estudos demonstram que a alta sensibilidade e especificidade associadas oferecem uma grande segurança diagnóstica e compõe uma das principais vantagens no uso do método.

Apesar do teste ELISA indireto poder apresentar reações cruzadas com outras bactérias do mesmo gênero, fato que gera preocupação, este estudo apresentou eficácia segura em resposta ao resultado das amostras analisadas. Porém, Ullah & Zhang (2023), devido a falsos resultados de precisão, o método de PCR tem uma vantagem sobre outras técnicas como ELISA, sendo uma ferramenta rápida e confiável para diagnosticar, identificar o genótipo e quantificar o microorganismo.

Respectivamente, a sensibilidade e especificidade do teste ELISA indireto para detecção de anticorpos anti-salmonella observada neste trabalho (100% e 92,85%) foi semelhante aos dados obtidos por Oliveira (2004), que detectou resposta humoral contra

sorotipos Gallinarum, Pullorum, Enteritidis e Typhimurium em amostras de soros de aves comerciais, demonstrando ser um teste útil, podendo ainda identificar aves com sorologia positiva para *S. gallinarum*, *S. pullorum* sem que haja reação cruzada com amostras de soro de aves vacinadas ou infectada por *S. enteritidis*.

Para garantia da qualidade dos resultados durante a realização do teste ELISA indireto, diversas medidas foram tomadas, como por exemplo: armazenamento adequado do substrato, manutenção periódica dos equipamentos utilizados e treinamento técnico, para que pudéssemos validar o teste. Andreasson et al. (2015) citam que a utilização de um método não validado pode levar a consequências desastrosas, podendo ocorrer a interpretação de resultados errados, levar perda de recursos financeiros, ao desperdício ou perda de tempo, bem como colocar em dúvida a credibilidade do laboratório e dos profissionais envolvidos em todo processo.

No presente trabalho, foi observado na linha de inspeção lesões anatomopatológicas mais comumente em fígado e coração. Em estudos realizados por Duarte & Santana (2019), durante a necropsia realizada em frangos de corte com suspeita de Salmonelose Aviária, as alterações anatomopatológicas mais evidentes foram observadas no fígado, coração, rins e intestino.

Com o intuito de reforçar a existência, neste estudo, do agente etiológico em linha de produção, foi caracterizada as lesões anatomopatológicas encontradas em coração e fígado de frangos de corte condenados com suspeita de Salmonelose aviária e realizado o isolamento bacteriano, onde foi identificado a *Salmonella spp.* em 23/25 amostras de coração e 25/25 de fígado. Entretanto, apesar deste resultado expressivo, Casagrande et al. (2017), citam que no Brasil não há estudos que correlacionem às lesões macroscópicas de causa infecciosa observadas em abatedouros de frango de corte com a caracterização histológica e o isolamento do agente presente nos órgãos lesionados.

Apesar do tempo gasto e demora no resultado, o teste microbiológico é confiável e foi utilizado neste estudo, como auxílio diagnóstico para confirmar a presença da *Salmonella spp.* dentro da produção. Corroborando com Muhammad et al. (2021) onde menciona que o diagnóstico através do método convencional de cultura é um “padrão ouro”, mas esta técnica é muito trabalhosa, cara, demorada devido ao crescimento lento

e requer pessoal muito qualificado, podendo estes fatores levar a variações nos resultados.

De acordo com o Regulamento de Inspeção Industrial de Produto de Origem Animal (Decreto nº 10.468, de 18 agosto de 2020) e atualizada pela Portaria nº 210 de 10 de novembro de 1998 do MAPA, os critérios de condenação de vísceras de frangos, consideram o aspecto visual (cor, forma e tamanho), consistência e odor do órgão. Porém, alterações macroscópicas presentes nas vísceras de frangos condenadas em linha de inspeção não podem ser consideradas como um diagnóstico definitivo da enfermidade, pois as alterações podem ter etiologias variadas.

Ficou evidente, neste trabalho que, a avaliação e as lesões encontradas em vísceras durante o exame pós morte das aves é um método importante de monitoramento de enfermidades nos aviários. Provando que, de acordo com Carneiro et al. (2017), o diagnóstico anatomopatológico é uma ferramenta indispensável na Medicina Veterinária. Contudo, faz-se necessário, de acordo com estudos realizados por Casagrande et al. (2017) a correlação a caracterização histológica e o isolamento do agente presente nos órgãos lesionados.

7 CONCLUSÃO

A ocorrência da Salmonelose aviária ficou comprovada através da detecção de anticorpos anti salmonella analisadas no soro sanguíneo das aves estudadas através do teste Elisa indireto associado ao isolamento e identificação do agente de amostras condenadas de vísceras de frangos.

Neste estudo, ficou demonstrado a importância do diagnóstico clínico associado aos exames complementares para diagnóstico definitivo da enfermidade, onde o teste Elisa indireto confirmou a suspeita da Salmonelose Aviária nas amostras de soro analisadas.

Os valores encontrados de especificidade e sensibilidade no teste ELISA indireto desenvolvido utilizando o antígeno, caracterizou-se eficaz para avaliar a identificação de anticorpos em animais convalescentes, podendo ser padronizado para o diagnóstico da enfermidade e introduzido na rotina do Médico Veterinário.

É importante ressaltar que os dados de ocorrência de *Salmonella* são a chave para medir o impacto da doença para que possa mitigar as intervenções mais prudentes a serem tomadas. Tornando-se com isso, o teste ELISA indireto, uma ferramenta importante para rastreabilidade da *Salmonella spp.*, sua epidemiologia e como auxílio diagnóstico.

Também foi proposto investigar a presença da *Salmonella spp.* em amostras de vísceras de frango através do seu isolamento e identificação com o intuito de reforçar, juntamente com o ensaio imunoenzimático indireto, a presença do microrganismo no lote e na região estudada.

Com a positividade destes resultados, podemos evidenciar a presença da bactéria no ambiente estudado, configurando assim, a necessidade de um monitoramento permanente para a doença e consequente adoção de medidas de biossegurança a fim de preservar a sanidade da produção.

Portanto mais estudos devem ser conduzidos para determinar a real importância desse agente como fator desencadeante de processos infecciosos bacterianos em frangos de corte.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, A. C. **Produção de um antígeno dialisado (das) para utilização em teste ELISA indireto no diagnóstico da salmonelose em mamíferos selvagens com potencial de reservatório.** 62f. TCC (Trabalho de Conclusão do Curso de Medicina Veterinária) - Universidade federal do Recôncavo da Bahia (UFRB) – Cruz da Almas – BAHIA, 2023.
- ANDREASSON, U.; PERRET-LIAUDET, A.; DOORN, L. J. C.; BLENNOW, K.; CHIASSERINI, D., ENGELBORGHES, S.; FLADBY, T.; GENC, S.; KRUSE, N.; KUIRPERIJ, B.; KULIC, L.; LEWCZUK, P.; MOLLENHAUER, B.; MROCZKO, B.; PARNERTTI, L.; VANMECHELEN, E.; VERBEEK, M. M.; WINBLAD, B.; ZETTERBERG, H.; KOEL-SIMMELINK, M.; TEUNISSEN, C. E. A practical guide to immunocoassay method validation. **Frontiers in Neurology** v. 6, p. 179, August 2015.
- ASSUNÇÃO, P. A.; MELLO, H. H. C.; ANDRADE, M. A.; TEIXEIRA, K. A.; OLIVEIRA, H. F.; CARVALHO, D. P. Use of neem (azadirachta indica) as a substitute for antimicrobial drugs in broiler chickens' feed **Cienc. Anim. Bras.**, Goiânia, v. 20, p. 1-9, e-52588, 2019.
- BAPTISTA, D. Q.; SANTOS, A. F. M.; AQUINO, M. H. C.; ABREU, D. L. C.; RODRIGUES, D. P.; NASCIMENTO, E. R.; PEREIRA, V. L. A. Prevalência e susceptibilidade antimicrobiana de sorotipos de *Salmonella spp.* isolados de frangos vivos e carcaças no estado do Rio de Janeiro **Pesq. Vet. Bras.** v. 38, n. 7, p. 1278-1285, 2018.
- BARBOSA, F B; FRANCO, L. S.; KNÖBLABPA, T. Detecção de *Escherichia coli* patogênica aviária (APEC) isoladas de frangos de corte com colibacilose em São Paulo - SP **Relatório Anual da ABPA** p.137-138, 2022.
- BARROS, I. M.; LIMA, T. F.; STELLA, A. E. Salmonelose Aviária e Saúde Pública: Atualidades e o seu controle no Brasil **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v. 17 n. 32, p. 458, 2020.
- BENDER, L. A.; VON MÜHLEN, C. A. **Testes Laboratoriais Aplicados à Imunologia Clínica.** Disponível em: [Testes Laboratoriais Aplicados Imunologia Clinica - Testes Laboratoriais Aplicados à Imunologia - Studocu](#) Acessado em: 14 Out. 2021.
- BIER, D.; TUTIJA, J. F.; PASQUATTI, T. N.; OLIVEIRA, T. L.; ARAÚJO, F. R.; VERBISCK, N. V. Identificação por espectrometria de massa MALDI-TOF de *Salmonella spp.* e *Escherichia coli* isolados de carcaças bovinas **Pesq. Vet. Bras.** v. 37, n. 12, p. 1373-1379, Dezembro 2017.
- BONFATI, S. E. **Manual de prevenção e controle de Salmonella em abatedouro frigorífico de aves.** Disponível em: [Manual de Prevenção e Controle de Salmonela Na](#)

Produção de Aves - 2018 - ABPA | PDF | Salmonella | Aves (scribd.com) Acessado em: 02 Jan. 2022

BOMFIM, G. **Cascudinho: impactos econômicos e sanitários**. Disponível em: <https://www.ourofinosaudeanimal.com/ourofinoemcampo/categoria/artigos/cascudinho-impactos-economicos-e-sanitarios/> Acessado em: 06 out. 2019

BRASIL Ministry of Health **Foodborne diseases outbreaks in Brazil Secretary of Health Surveillance, Brasília, Distrito Federal**. Disponível em: <http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/janeiro/17/Apresentacao-Surtos-DTA-2018.pdf> Acessado em: 15 Abr. 2023

CALAÇA, G. M.; CAFÉ, M. B.; ANDRADE, M. A.; STRINGHINI, J. H.; ARAÚJO, I. C. S.; LEANDRO, N. S. M. Frangos desafiados experimentalmente com *salmonella enterica* sorovar enteritidis e *eimeria tenella* e tratados com ácidos orgânicos **Cienc. Anim. Bras.**, Goiânia, v. 20, p. 1-10, e-43084, 2019.

CARDOSO, S. J. **Desenvolvimento de ensaios imunoenzimáticos do tipo ELISA para pesquisa de Legionella pneumophila em suporte de papel utilizando a tecnologia Lab-on-Paper**. 85f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) Faculdade de Ciência e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, 2016.

CARDOSO, A. L. S. P.; TESSARI, E. N. C. Salmoneloses Aviárias: Revisão **Revista Eletrônica Nutritime** v. 12, n. 03, p. 4049-4069, 2015.

CARNEIRO, C.; BAVARESCO, L. H.; MENDES, R. A.; SILVA, T. M. A.; BALDI, K. R. A.; CECHIN, R. A.; GRIS, A.; MINGOTTI, T. A.; PIVA, M. M.; RHODEN, L. A.; GOMES, D. J.; SANTIANI, F. Diagnóstico Anatomopatológico em Animais Domésticos **X Mostra Nacional de Iniciação Científica e Tecnologia Interdisciplinar**, Campus Camboriú-SC, Instituto Federal Catarinense, III IF Cultura, 2017.

CARNEIRO, D. O., COSTA, M. S. F. CARACTERÍSTICAS E PATOGENICIDADE DA SALMONELLA ENTERICA: UMA REVISÃO DE LITERATURA **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 21, n. 1, Jan. - Mar./2020.

CASAGRANDE, R. A.; MACHADO, G.; GUERRA, P. R.; CASTRO, L. A.; SPANAMBERG, A.; SILVA, S. C.; CARDOSO, M. R. I.; DRIEMEIER, D. Caracterização anatomopatológica e bacteriológica em frangos de corte condenados totalmente por colibacilose sob Serviço de Inspeção Federal **Pesq. Vet. Bras.** v. 37, n. 9, p. 949-957, setembro 2017.

COELHO, L. R.; MELO, R. T.; MONTEIRO, G. P.; REISCHAK, D.; MENDONÇA, A. O.; TAVARES, A. A. S.; ROSSI, D. A. Validation of Alternative Methods of Detection of *Salmonella Spp.* in Experimentally Contaminated Poultry Environmental Samples **Revista Brasileira de Ciência Avícola** v. 23, n. 2, p. 001-008, 2021.

CORRÊA, I. M. O.; PEREIRA, L. Q.; SILVA, I. G. O.; LITARUGIO, R.; SMANIOTTO, B. D.; SILVA, T. M.; OKAMOTO, A. S.; ANDREATTI FILHO, R. L. Comparison of three

diagnostic methods for *Salmonella enterica* serovars detection in chicken rinse **Pesq. Vet. Bras.** v. 38, n. 7, p. 1300-1306, julho 2018.

COSTA J. D. F. **Impactos das salmoneloses na avicultura e na saúde pública: uma revisão de literatura.** 33f. TCC (Trabalho de Conclusão do Curso de Medicina Veterinária) Universidade Federal da Paraíba – Areia – Paraíba, 2020.

COSTA, F. **Um panorama sobre a Salmoneloses.** Disponível em: <https://agrocereasmultimix.com.br/blog/saude-avicola-um-panorama-sobre-salmonelose/> Acessado em: 20 Abr. 2023.

DE CARLI, S.; GRÄF, T.; KIPPER, D.; KIELING, F.; LEHMANN, M; ZANETTI, N.; SIQUEIRA, F. M.; CIBULSKI, S.; FONSECA, A. S. K.; IKUTA, N.; LUNGE, V. R. Molecular and phylogenetic analyses of *Salmonella gallinarum* trace the origin and diversification of recent outbreaks of fowl typhoid in poultry farms **Veterinary Microbiology**, v. 212, p. 80-86, 2017.

BRASIL Decreto nº 10.468, de 18 de Agosto de 2020. Altera o Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017, que regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre o regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. Brasília, 18 de agosto de 2020; 199º da Independência e 132º da República.

DIAS, P. A.; MORAES, T. P.; WILSMANN, D. E.; FERRASO, M. M.; MARINHEIRO, M. F.; HEINEN, J. G.; CALABUIG, C. I. P.; TIMM, C. D. Ocorrência de *Campylobacter* e Enterobacteriaceae em aves silvestres e frangos de corte **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** v. 71, n. 1, 2019.

DUARTE, P. M.; SANTANA, V. T. P. S. Isolamento de enterobactérias a partir de frangos de corte necropsiados: relato de caso **Colloquium Vitae** v. 11, n. 3, p. 79-84, 2019.

DUARTE, S. C.; KUCHIISHI, S. S.; ALMEIDA, F. S.; OSOWSKI, G V Guia ilustrado para isolamento de *Salmonella* spp. de origem avícola **Concórdia: Embrapa Suínos e Aves** p. 12-13, 2016.

DUCATELLE, R. **Control de Salmonella en ponedoras mediante el uso de vacunas.** Disponível em: [Richard Ducatelle sobre el control de salmonella en ponedoras \(avinews.com\)](http://www.avinews.com) Acessado em: 01 Abr. 2023.

EHUWA O.; JAISWAL, A. K.; JAISWAL, S. *Salmonella*, Food Safety and Food Handling Practices **Foods** v. 10, p. 907, 2021.

EMBRAPA **Estatísticas/Brail/Ovos.** Disponível em: <https://www.embrapa.br/suinos-e-aves/cias/estatisticas/ovos> Acessado em: 23 Mar. 2023.

ESTUPIÑAN, A. L. P. C. “**Ressurgência do tifo aviário na avicultura industrial brasileira: novos estudos epidemiológicos de uma enfermidade antiga**”. 61f. Dissertação (Mestrado em Patologia Animal) – Faculdade de Ciência Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2016.

FERNANDES, B.; CERQUEIRA, R. B. Padronização de um teste ELISA indireto para diagnóstico da cinomose canina **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 29, n. 4, 2022.

FERRAZ, V. **Ovo e Salmonella**. Disponível em: <http://conectamicro.uff.br/ovos-e-salmonela/> Acesso em: 06 Jun. 2022.

FRANCO, V. L. M.; MARQUES, L. O. C.; DINIZ, S. G. S.; ASSUNÇÃO, V. I. S.; NOGUEIRA, A. B. L.; BRAGAGNOLO, J. C. B.; BAREZANI, A. F. B.; PAIM, M. J. A. A técnica de ELISA e a sua importância para o diagnóstico clínico **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 7, n. 9, p. 89877-89885 sep. 2021.

FREITAS NETO, O. C. Patogenia: Mecanismos de invasão e evasão de *Salmonella spp.* durante a infecção de aves. **Revista Avisite Encarte Especial**, n. 01, p. 9-11, 2015.

FREY, A.; CANZIO, J. D.; ZURAKOWSKI, D. A. statistically defined endpoint titer determination method for immunoassays **J. Immunol. Methods** v. 1, n. 221(1-2) p. 35-41, Dec 1998.

GUIMARÃES, D. F. **Desenvolvimento e padronização de ensaio imunoenzimático para detecção de anticorpos contra os vírus do Oeste do Nilo e da Encefalite de São Luís**. 59f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Departamento de Medicina Veterinária – Universidade Federal Rural de Pernambuco – Recife/PE, 2017.

GONÇALVES, G. A. M. DIAGNÓSTICO PARA *Salmonella* entérica na clínica de aves de estimação **Boletim Técnico ABRAVAS ANO I**, n. 05, Dezembro 2016.

GUASTALLI, E. A. L.; BUIM, M. R. **Tifo aviário: importância do diagnóstico laboratorial**. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/publicacoes/comunicados-documentos-tecnicos/comunicados-tecnicos/tifo-aviario-import-acirc-ncia-do-diagnostico-laboratorial> Acessado em: 12 Abr. 2023.

HOFACRE, C. L. **Manejo, epidemiologia e impacto econômico de enfermidades bacterianas entérica em polos de engorde**. Disponível em: [Enfermedades bacterianas entéricas en pollos de engorde \(avinews.com\)](http://www.avinews.com) Acessado em: 01 Abr. 2023.

ISOLAN, L. W.; PERDONCINI, G.; TODESCHINI, B.; SANTOS, L. R.; GUAHYBA, A. S.; DEPNER, R.; NASCIMENTO, V.P. Sistema de lavagem de carcaças e controle de *Salmonella spp.* em abatedouros de frangos de corte **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** v. 71, n. 1 Belo Horizonte Jan./Fev. 2019.

BRASIL Instrução Normativa nº 20 de 21 de outubro de 2016 MAPA - Estabelece o Controle e o Monitoramento de *Salmonella spp.* nos Estabelecimentos Avícolas Comerciais de Frangos e Perus de Corte e nos Estabelecimentos de Abate de Frangos, Galinhas, Perus de Corte e Reprodução, Registrados no Serviço de Inspeção Federal (SIF).

KASMANAS, T. **O que é Salmonelose e quais suas medidas de controle em aves.** Disponível em: <https://www.universodasaudeanimal.com.br/avicultura/o-que-e-salmonella-e-quais-suas-medidas-de-controle-em-aves/> Acessado em: 13 Abr. 2023.

KICH, J. D.; MENEGUZZI, M.; REICHEN, C. O. **XVIII CONGRESSO DA ABRAVES, 2017, Goiânia-Goiás AUMENTO DA FREQUÊNCIA DE SALMONELA CLÍNICA NO BRASIL** Goiania-GO, 2017, p. 138-149.

LI, X.; NIE, C.; ZHANG, Z.; WANG, Q.; SHAO, P.; ZHAO, Q.; QU, L. Evaluation of genetic resistance to *Salmonella Pullorum* in three chicken lines. **Poultry Science**, v. 97, n. 3, p.764-769, 2018.

LOPES, M. C. **Alterações hepáticas em aves domésticas (*Gallus gallus domesticus*): estudo retrospectivo e prospectivo de 300 casos.** 121f. DISSERTAÇÃO (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG, 2021.

LOPES, E. S.; MACIEL, W. C.; TEIXEIRA, R. S. C. T.; ALBUQUERQUE, A. H.; VASCONCELOS, H.; MACHADO, D. N.; BEZERRA, W. G. A.; SANTOS, I. C. L. Isolamento de *Salmonella spp.* e *Escherichia coli* de psittaciformes: relevância em saúde pública **Arq. Inst. Biol.**, v. 83, p. 1-10, e0602014, 2016.

BRASIL MAPA **Programa Nacional de Sanidade Avícola.** Disponível em: [Programa Nacional de Sanidade Avícola \(PNSA\) — Ministério da Agricultura e Pecuária \(www.gov.br\)](http://www.gov.br/pnsa). Acessado em: 01 Abr. 2023.

MARTINS, N. R. S.; MARIN, S. Y.; TORRES, A. C. D.; RESENDE, J. S. **Salmoneloses Patologia e Saúde Animal.** Disponível em: <https://avicultura.info/pt-br/salmoneloses/> Acessado em: 01 Jan. 2023.

MINIC, R.; ZIVKOVIC, I. **Optimization, Validation and Standardization of ELISA.** Disponível em: [Optimization Validation and Standardization of ELISA.pdf](#) Acessado em: 18 jun. 2022.

MELO, R. T.; RESENDE, A. R.; MENDONÇA, E. P.; NALEVAIKO, P. C.; MONTEIRO, G. P.; BUIATTE, A. B. G.; ROSSI, D. A. *Salmonella Minnesota* de origem avícola apresenta fatores de virulência e risco potencial aos humanos **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 72, n. 4, p. 1353-1362, 2020.

BRASIL Ministério da Saúde **Salmonella (Salmonelose) – Prevenção.** Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/s/salmonella-salmonelose/prevencao> Acessado em: 06 Mai 2023.

MOHAMMED, B. T. Identification and bioinformatic analysis of *invA* gene of *Salmonella* in free range Chicken **Brazilian Journal of Biology** v. 84, e263363, 2024.

MOLOSSI, F. A.; CECCO, B. S.; HENKER, L. C.; VARGAS, T. P.; LORENZETT, M. P.; BIANCHI, M.V.; LORENZO, C.; SONNE, L.; DRIEMEIER, D.; PAVARINI, S. P. Epidemiological and pathological aspects of salmonellosis in cattle in southern Brazil **Ciência Rural**, v. 51, n. 3, p. 10, 2021.

MORAES, D. M. C.; ANDRADE, M. A.; DUARTE, S. C.; BASTOS, T. S. A.; JAYME, A. V. S.; NUNES, I. A. Phenotypic and molecular detection of *Salmonella sp.* on growing, rearing and production phases in a commercial group of laying hens **Pesq. Vet. Bras.** v. 36, n. 06, June 2016.

MUNIZ, E. O. **LPS presente nas vacinas vivas é um importante antígeno na estimulação da imunidade contra as salmoneloses.** ZOETIS (2021) Disponível em: <https://www.zoetis.com.br/paineldaavicultura/posts/54-o-importante-papel-do-lps-na-forma%C3%A7%C3%A3o-da-imunidade-contrasalmonella.aspx> Acessado em: 22 Mar. 2023.

MUNIZ, E. **Como funcionam as vacinas vivas contra a Salmonella.** ZOETIS (2022). Disponível em: <https://www.zoetis.com.br/paineldaavicultura/posts/53-como-funcionam-as-vacinas-vivas-contrasalmonella.aspx> Acessado em: 23 Mar. 2023.

MUHAMMAD, J.; RABBANI, M.; SHEIKH, A. A.; RABAAN, A. A.; KHAN, A.; HAQ, I. U.; GHORI, M. T.; KHAN, S. A.; AKBAR, A. Molecular detection of *Mycoplasma gallisepticum* in different poultry breeds of Abbottabad and Rawalpindi Pakistan **Braz. J. Biol.** v. 83, 2021.

NASCIMENTO, V. F.; SALAZAR, R. F. S.; ZAMBERLAN, J. F.; BORTOLOTTI, R. P.; SILVA, J. M.; SALAZAR, L. N. Incidência de *Salmonella sp* em máscara suína de frigorífico no Rio Grande do Sul - nota técnica **Revista Interdisciplinar de Ensino, Pesquisa e Extensão** v. 7, p. 324 - 331, 2019.

NASCIMENTO, C. B.; PINHEIRO, R. R.; ALVES, F. S.F.; BRITO, R. L. L.; SOUSA, A.; SILVA, R. R. A. B.; OLIVEIRA, N. R.; BATISTA, P. M. C. S. Ferramentas diagnósticas de Lentivirose de Pequenos Ruminantes: padronização da técnica de ELISA indireto Scientific Article, Animal Pathology • **Arq. Inst. Biol.** v. 81, n. 01 • Jan-Mar 2014.

OIE **World Organisation for Animal Health- Disease information.** Disponível em: <http://www.oie.int/wahis2/public/wahid.php/Diseaseinformation/statusdetail> Acessado em: 19 Jan. 2023.

OIE. **Fowl typhoid and Pullorum disease. Terrestrial Manual (2018).** Disponível em: https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.03.11_FOWL_TYPHOID.pdf. Acessado em: 28 Nov. 2021.

OLIVEIRA, G. H. **Ensaio imunoenzimático (elisa) para detecção da resposta sorológica contra *Salmonella gallinarum*, *Salmonella pullorum*, *Salmonella***

enteritidis e *Salmonella typhimurium* em aves. 56f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária (Patologia Animal) Universidade Estadual Paulista - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Jaboticabal/SP, 2004.

OLIVEIRA, F. R.; MACHADO, F. M. E.; COELHO, H. E. Estudo anatomopatológico de fígados que levam a condenação total de carcaça, na linha de inspeção, durante o abate de frangos de corte (*Gallus gallus domesticus*) na região do Triângulo Mineiro **PUBVET**, Londrina, v. 8, n. 2, Ed. 251, Art. 1662, Janeiro, 2014.

PAIVA, J. B.; DENADAI, J.; ALMEIDA, A. M.; BARROW, P. A.; BARBOSA, F.O.; ALVES, L. B. R.; SARAIVA, M. M. S.; OLIVEIRA, C. J. B.; BERCHIERI JÚNIOR, A.; FREITAS NETO, O. C. Evaluation of propanediol and cobalamin metabolism in the intestinal colonization and systemic invasion of *Salmonella* Enteritidis in layinghens **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** v. 72, n. 6, p. 2391-2396, 2020.

PARVEJ, M. S.; NAZIR, K. H. M. N. H.; RAHMAN, M. B.; JAHAN, M.; RHAMAN, M. F.; Prevalence and characterization of multi-drug resistant salmonella - enterica serovar gallinarum biovar pullorum and gallinarum from chicken **Veterinary World**, v. 9, n. 1, p. 65-70, 2016.

PENHA FILHO, R. A. C.; ZACAN, F. T.; ALMEIDA, A. M.; BERCHIERE JUNIOR, A. Protection of chicken sagain stfowl typhoid usingfield vaccine programs formulate dwith the live attenuated strain *Salmonella gallinarum* Δ cobS Δ cbiA **Arq. Inst. Biol.**, v. 84, p. 1-5, e0272015, 2017.

PENHA FILHO, R. A. C.; FERREIRA, J. C.; KANASHIRO, A. M. I.; DARINI, A. L. C.; BERCHIERI JUNIOR, A. Antimicrobial susceptibility of *Salmonella* Gallinarum and *Salmonella* Pullorum isolated fromillpoultry in Brazil **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 46, n. 3, p. 513-518, março 2016.

PERDIGÓN, L. T. **Innovadora estratégia para mejorar la biosseguridad em granjas avícolas.** Disponível em: <https://avinews.com/innovadora-estrategia-para-mejorar-la-bioseguridad-en-granjas-avicolas/> (avinews.com) Acessado em: 01 Abr. 2023.

PEREIRA, R. L. G. **Comparação de técnicas de ensaio de absorção imunoenzimático (ELISA) para avaliação da reatividade de anticorpos anticocaina tipo IgG em camundongos** Área de concentração: **Medicina Molecular.** 85f. Dissertação (Mestrado em Medicina Molecular): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina, 2019.

PINTO, D. O.; EBLING, P. D.; MENDES, T. C. SALMONELOSE AVIÁRIA: RELATO DE CASO 4º Simpósio de Agronomia e Tecnologia de Alimentos – **AGROTEC – FAI** Centro Universitário, Santa Catarina, 2017.

BRASIL Portaria nº 210, de 10 de novembro de 1998 – MAPA - Regulamento Técnico da Inspeção Tecnológica e Higiênico-Sanitária de Carne de Aves. **Diário Oficial da União** de 26 de Novembro de 1998, seção 01, página 226.

BRASIL Portaria Nº 144, de 05 de Junho de 2019 – ADAB - que determina que todos os estabelecimentos registrados no Serviço de Inspeção Estadual - SIE/BA deverão implantar ou atualizar os Programas de Autocontrole. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil** de 06 de Junho de 2019, ANO CIII - No 22.675.

PORTELA, J. B.; COIMBRA, P. T.; CAPPATO, L. P.; ALVARENGA, V. O.; OLIVEIRA, R. B. A.; PEREIRA, K. S.; AZEREDO, D. R. P.; SANT'ANA, A. S.; NASCIMENTO, J. S.; CRUZ, A. G. Predictive model for inactivation of *Salmonella* in infant formula during microwave heating processing **Food Control**, v. 104, p. 308-312, october 2019.

POSSAS, J. L. S. Pré validação do ensaio imunoenzimático para quantificação do teor de ovoalbumina na vacina contra febre amarela Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Vigilância Sanitária) – Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, 2012.

RAMIREZ, A. **Teste Elisa como ferramenta de diagnóstico: Princípios básicos.** Disponível em: https://www.3tres3.com.br/artigos/elisa-como-ferramenta-de-diagnostico-1-2-principios-basicos_2575/ . Acessado em: 24 Mar. 2023.

RAPOSO, R. S.; DEFENSOR, R. H.; GRAHL, T. R. Uso de probióticos na avicultura para o controle da *Salmonella* spp.: Revisão e perspectivas de utilização **PUBVET** v. 13, n. 4, a305, p. 1-8, Abril 2019.

RIBAS, L. M.; ROSA, M. C.; NOGUEIRA, C. E. W.; FINGER, I. S.; CUNHA, R. C.; LEITE, F. P. L “Cell ELISA” como ferramenta auxiliar no controle da Adenite equina **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** v. 70, n. 01 • Jan-Feb 2018.

RIBEIRO, A. C. S. **Salmonelose Bovina e sua importância para a saúde pública.** 78f. Monografia (Programa de Residência em Área Profissional de Saúde em Medicina Veterinária) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2017.

ROCHA-E-SILVA, R. C.; CARDOSO, W. M.; HORN, R. V.; CAVALCANTI, C. M.; BELEZA, A. J. F.; ALMEIDA, C. P.; BEZERRA, W. G. A.; CARMO, C. C.; NOGUEIRA, C. H. G.; LIMA, B. P.; MARQUES, A. R.; TEIXEIRA, R. S. C. Relation ship between clinical symptomatology on the isolation of *Salmonella gallinarum* of japanese quail (*Coturnix coturnix*) **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 70, n. 4, p. 1187-1194, 2018.

SALEM, R. B.; ABBASSI, M. S.; GARCÍA, V.; GARCÍA-FIERRO, R.; FERNÁNDEZ, J.; KILANI, H.; JAOUANI, I.; KHAYECHE, M.; MESSADI, L.; RODICIO, M. R. J. Antimicrobial drug resistance and genetic properties of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis circulating in chicken farms in Tunisia **Infect Public Health** (2017),

SALLES G. **Salmonella: A imunoprofilaxia pode colaborar com o aumento das exportações.** ZOETIS. Disponível em: <https://www.zoetis.com.br/paineldaavicultura/posts/112-a-imunoprofilaxia-pode-colaborar-com-o-aumento-das-exportacoes.aspx>. Acessado em: 22 Mar. 2023.

SALLES G. **Os mecanismos imunes envolvidos na resposta de uma vacina para prevenção de Metapneumovírus Aviário. ZOETIS.** Disponível em: <https://www.zoetis.com.br/paineldaavicultura/posts/69-a-imunidade-gerada-pelas-vacinas-previne-perdas-relacionadas-ao-metapneumovirus-aviario.aspx>. Acessado em: 22 Mar. 2023.

SANDVIK, L. M.; SKARSTEIN, M. M.; SVENDAL, L.; DEBENHAM, J. J. Prevalence of Salmonella serovars isolated from reptiles in Norwegian zoos Ane Mohn Bjelland **ACTA Vet Scand** v. 62, n. 3, 2020.

SANTOS, E. J.; NEVES, K. L. **Salmonella: O que você precisa saber?** Disponível em: <https://semearfoodsafetyculture.com.br/salmonella-o-que-voce-realmente-precisa-saber/> Acessado em: 17 Mar. 2023.

SANTOS, L. A.; MION, L.; MAROTZKI, M.; PARIZOTTO, L.; RODRIGUES, L.B.; NASCIMENTO, V.P.; SANTOS, L.R. Número mais provável miniaturizado e microbiologia convencional para isolamento de Salmonella spp. em abatedouros de frango de corte. **Pesq. Vet. Bras.** v. 35, n. 3, p. 223-229, 2015.

SILVA, A. J. H.; ANJOS, C. P.; NOGUEIRA, L. S.; RIBEIRO, A. C. R.; FRAGA, E. G. S. *Salmonella* spp. um agente patogênico veiculado em alimentos. **Revista do Encontro de Extensão, Docência e Iniciação Científica**, v. 5, n. 1, 2018.

SILVA, A. C. P.; MORAES, T. P.; CASARIL, K. B. P. B. Isolation, characterization, and resistance profile of Salmonella spp. from chicken cuts [Isolamento, caracterização e perfil de resistência de *Salmonella* spp., provenientes de cortes de frango] **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 73, n. 5, p. 1085-1093, 2021.

SHI, H.; DENG, X.; DENG, Q.; LIU, Z.; LIU, N. Probiotic Lactobacilli Improved Growth Performance and Attenuated *Salmonella typhimurium* Infection Via Jak/Stat Signaling in Broilers **Revista Brasileira de Ciência Avícola** v. 23, n.1, p. 001-008, 2020.

SOARES, A. N.; BRANDÃO, E. C.; CUNHA, G. F.; SHERRER, L. R.; PRECIVALE, M.; STRASSMANA, P. G.; ASSIS, S. R. L. (2012) – MANUAL DE CONDUTAS SBQC – Direitos reservados sboc – Capítulo 5 – Artigos sobre Teses Diagnósticos.

SOUZA, C. S.; VIEITES, F. M.; JUSTINO, L. R.; LIMA, M. F.; CHAVES, A. S.; CARDOSO, V. S.; SOUSA, F. D. R.; COSTA, T. F.; MINAFRA, C. S.; LIMA, C. A. R. Importância da saúde intestinal em frangos de corte **Research, Society and Development**, v. 9, n. 3, e86932475, 2020.

STELLA, A. E.; COSTA, A. O.; VENTURA, G.; SCHIMMUNECH, M. S.; LIMA, D.; PAULA, E. M. N. Avian Salmonellosis **Research, Society and Development**, v. 10, n. 4, e1910413835, 2021.

TAN, S. J.; NORDIN, S.; MOHD, E.; MAHROR, N, Salmonella spp. in Chicken: Prevalence, Antimicrobial Resistance, and Detection Methods **Microbiol. Res.** n. 13, p. 691–705, 2022.

TAKANO, V. L.; SILVA, T. S.; SILIANO, P. R. ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE ENTEROBACTÉRIAS EM BANHEIROS **Unisanta Bioscience** v. 10, n. 4, p. 235-240, 2021.

TALAMINI, D. J. D.; MARTINS, F. M. Panorama da Avicultura e do Mercado de Carnes **Anuário 2022 – Revista Avicultura Indútrial**, v. 10, p. 20-27, 2022.

TAVARES, M. F. F. A AVICULTURA BRASILEIRA E O MERCADO MUNDIAL DE CARNES **Anuário 2022 - Revista Avicultura Industrial** n. 9, 2022.

TOMICH, R. G. P.; JULIANO, R. S.; PELLEGRIN, A. O.; BOMFIM, M. R. Q.; STANCIOLI, E. F. B.; KOURY, M. C. Ensaio Imunoenzimático (ELISA) com Antígeno Recombinante Para Triagem de Bovinos Positivos Para Leptospirose **Circular Técnica - EMBRAPA**, n. 86, Corumbá/MS, 2009.

ULLAH, N.; ZHANG, C. Prevalence of active HCV infection and genotypic distribution among the general population of district Mardan, Pakistan **Braz. J. Biol.** n. 83, 2023.

VIEIRA JÚNIOR, J. C. **Desenvolvimento de ensaio imunoenzimático para detecção de anticorpos IgG anti-proteína de nucleocapsídeo da detecção do Vírus SARS-Cov-2** Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciência Biológicas, Programa de Pós Graduação em Farmacologia, 2022.

WANG, C. W.; CHEN, J.; SHAO, X.; HUANG, P.; ZHA, J.; YE, Y. Occurrence and antimicrobial resistance of Salmonella isolated from retail meats in Anhui, China **Food Sci Nutr.** n. 9, p. 4701–4710, 2021.

WEI, B.; SHANG, K.; CHA, S. Y.; ZHANG, J. F.; KANG, M.; JANG, H. K. Prevalence and potential risk of Salmonella enterica in migratory birds from South Korea. **Veterinary Microbiology**, n. 249, 108829, 2020.

ZANINELLI, R. L.; GOBETTI, S. T. C.; OLIVEIRA, K. M. B.; CAMPANHA, J. E. T. Salmoneloses na produção avícola – Revisão bibliográfica. **Ciência Veterinária UniFil.** v. 1, n. 3, p. 154-163, Jul.-Set. 2018.